

VIVIAN MACEDO GOMES MARÇAL

**AVALIAÇÃO DA VITAMINA D NAS GESTANTES COM FETOS
DE PESO ABAIXO DO PERCENTIL DE 10**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista
de Medicina, para obtenção do Título
de Mestre em Ciências.

SÃO PAULO

2019

VIVIAN MACEDO GOMES MARÇAL

**AVALIAÇÃO DA VITAMINA D NAS GESTANTES COM FETOS
DE PESO ABAIXO DO PERCENTIL DE 10**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista
de Medicina, para obtenção do Título
de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Marcondes Machado Nardozza

Coorientadores: Profa. Dra. Silvia Daher

Prof. Dr. Francisco Lázaro Pereira de Sousa

SÃO PAULO

2019

Marçal, Vivian Macedo Gomes

Avaliação da vitamina D nas gestantes com fetos de peso abaixo do percentil de 10./ Vivian Macedo Gomes Marçal.
– São Paulo, 2019.

xii, 67f.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo.
Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em
Obstetrícia.

Título em Inglês: Vitamin D evaluation in pregnant weights
below 10 percent.

Palavras-chave: 1. Feto. 2. Pequeno para idade gestacional.
3. Restrição do Crescimento Fetal. 4. Vitamina D.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE OBSTETRÍCIA

Professores Titulares do Departamento:

Profa. Dra. Mary Uchiyama Nakamura

Profa. Dra. Rosiane Mattar

Chefe do Departamento:

Prof. Dr. David Baptista da Silva Pares

Coordenador do Programa de Pós-graduação em Obstetrícia:

Prof. Dr. Edward Araujo Júnior

*Ao meu amado filho, Fernando Gomes Marçal,
por ser uma criança amável e compreensiva.
É por você que me redescubro e tento ser uma pessoa cada vez melhor.*

*Ao meu marido e amigo, Ademar Marçal, meu amor desde a adolescência,
meu companheiro para a vida, aquele que compartilha minhas
lutas e as conquistas diárias.*

*Aos meus pais, Mara Lúcia Macedo Gomes e Olegário de Pinho Gomes,
pelo amor, dedicação e incentivo em todas as etapas da minha vida.*

*A minha irmã, Michele Macedo Gomes Mauri,
pelo apoio e carinho de sempre.*

*Ao meu cunhado e colega de profissão, Leonardo Mauri,
pelo exemplo de profissional.*

*Aos meus sogros, Cecília Anjoni e Leon Manick, e aos meus cunhados
Patrícia e Marcelo Marçal, pelo apoio nos momentos que precisei.*

*A minha família e aos meus amigos,
que sempre respeitaram minhas decisões.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar em todos os momentos da minha vida.

Ao meu orientador, Professor Dr. Luciano Marcondes Machado Nardozza, por me receber com carinho, respeito e incentivar no projeto.

À minha coorientadora Profa. Dra. Silvia Daher, pela confiança em mim depositada.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Francisco Lázaro Pereira de Sousa, pela amizade, paciência e compromisso com que me conduziu.

À Profa. Dra. Rosiane Mattar, pela dedicação ao Departamento de Obstetrícia.

Ao Prof. Dr. Antonio Fernandes Moron e ao Prof. Dr. David Baptista da Silva Pares, por me darem exemplo de liderança.

Ao Prof. Dr. Edward Araújo Júnior e ao Prof. Dr. Nelson Sass, por me darem condições de realizar esta tese.

Ao Prof. Dr. Guilherme Antonio Rago Logo, à Profa. Dra. Roseli Mieko Nomura, ao Prof. Dr. Alberto Borges Peixoto, pelo tempo disponibilizado para esta tese.

À Profa. Dra. Sue Yazaki Sun e ao Prof. Dr. Jurandir Piassi Passos, pelo exemplo de pessoas e profissionais.

As minhas amigas de ambulatório Ana Carolina Rabachini Caetano, Ana Cristina Perez Zamarian, Carolina Pacheco Silva, Jaqueline Brandão Mazzola e Raquel Margiotte Grohmann, pelo trabalho e conhecimentos compartilhados. Sou imensamente grata pela oportunidade de fazer parte deste grupo.

Aos alunos, em especial, Jaqueline Santili Lima e Isabela César Corazza, e residentes do ambulatório de Restrição do Crescimento Fetal, que me ajudaram na discussão e avaliação das gestantes.

A todos os professores, chefes de plantão, funcionários, residentes, do Hospital Guilherme Álvaro, escola da minha amada Faculdade de Ciências Médicas de Santos, em especial: Dr. Rogério Gomes dos Reis Guidoni, Dr. Sérgio Floriano de Toledo, Dra. Maria Renata Natale Lopes Paltronierie e Dra. Claudia Ribas Araújo Starnini, por aumentarem meu amor e carinho pela Obstetrícia.

Ao Prof. Dr. Mauricio Saito, pelos seus ensinamentos e confiança.

A todos os professores e docentes da Escola Paulista de Medicina, pelo acolhimento e por todo o aprendizado compartilhado.

A todos os pós-graduandos da Medicina Fetal pela amizade, convivência, pelas oportunidades de trabalho e pelas discussões de casos.

A toda a equipe de funcionários do Ambulatório, principalmente à Vera, que auxiliou no agendamento e atendimento das pacientes.

À secretária Rosinéa Pereira Lima, pela orientação e ajuda nas questões da pós-graduação.

Ao Professor Paul Khan, pelo auxílio na língua inglesa.

Ao Professor Fábio Tadeu Montesano, pela análise estatística do nosso material.

À Professora Sandra Duarte, pela correção gramatical deste estudo.

Ao Sr. José Roberto Gonçalves, pela dedicação na formatação desta tese.

Às gestantes que aceitaram participar deste estudo colaborando, assim, com a pesquisa científica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo patrocínio desta jornada.

SUMÁRIO

Dedicatória.....	iv
Agradecimentos.....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tabelas.....	ix
Lista de abreviaturas.....	x
Resumo.....	xi
Abstract.....	xii
 1 INTRODUÇÃO.....	 1
 2 OBJETIVOS.....	 9
 3 ANÁLISE DA LITERATURA.....	 11
 4 PACIENTES E MÉTODO.....	 18
4.1 Pacientes.....	19
4.1.1 Critérios de inclusão.....	20
4.1.2 Critérios de exclusão.....	20
4.2 Método.....	21
4.2.1 Exame de ultrassonografia.....	21
4.2.2 Coleta de material.....	22
4.2.3 Princípios do procedimento.....	22
4.2.4 Preparação dos reagentes.....	22
 5 RESULTADOS.....	 25
 6 DISCUSSÃO.....	 30
 7 CONCLUSÃO.....	 37
 8 REFERÊNCIAS.....	 39
 9 ANEXOS.....	 45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estrutura Química da Vitamina D.....	4
Figura 2 –	Síntese e metabolismo da vitamina D assim como sua ação na regulação dos níveis de cálcio, fósforo e metabolismo ósseo.....	6
Figura 3 –	Gráfico da Distribuição da variável Vitamina D.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Critérios para diagnóstico de RCF precoce e tardio.....	3
Tabela 2 –	Comparação das variáveis numéricas maternas nos três grupos avaliados.....	26
Tabela 3 –	Hábitos maternos em relação à ingestão de peixes, exposição solar, reposição de vitamina D durante a gestação e tabagismo entre os grupos analisados.....	27
Tabela 4 –	Medida descritiva da variável Vitamina D.....	28
Tabela 5 –	Resultados da aplicação do modelo de análise de variância aos dados de interesse.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS

AAUt	Artérias Uterinas
ACOG	American College of Obstetrics and Gynecology
AIG	Adequado para Idade Gestacional
AU	Artéria Umbilical
CA	Circunferência Abdominal
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DBP	Proteína Transportadora de Vitamina D
DCC/G	Diagnóstico Clínico Cirúrgico Ginecológico
DON	Diagnóstico Obstétrico de Normalidade
DOPA	Diagnóstico Obstétrico Patológico Atual
DOPP	Diagnóstico Obstétrico Patológico Pregresso
DP	Desvio Padrão
DUM	Data da última menstruação
ECR	Ensaio Clínicos Randomizados
EPM	Escola Paulista de Medicina
IC	Intervalo de Confiança
IG	Idade Gestacional
IMC	Índice de Massa Corpórea
IP	Índice de Pulsatilidade
IR	Índice de Resistência
PFE	Peso Fetal Estimado
PIG	Pequeno para idade gestacional
RCF	Restrição do Crescimento Fetal
RCP	Relação Cérebro-Placentária
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
UVB	Radiação Ultravioleta B
Vit D	Vitamina D
1,25(OH)2D	1,25 dihidroxivitamina D
1-OHase	1-hidroxilase
24,25(OH)2D	24,25 dihidroxivitamina D
24-OHase	24-vitamina D-hidroxilase
25(OH)D	25-hidroxi vitamina D

RESUMO

Avaliação da vitamina D nas gestantes com fetos de peso abaixo do percentil de 10

Objetivo: Avaliar a dosagem da vitamina D nas gestantes com fetos pequenos para a idade gestacional e com restrição do crescimento fetal. **Métodos:** Estudo prospectivo transversal do tipo caso-controle, no qual foram selecionadas gestantes, com idade gestacional entre 26 e 36 semanas, com fetos que apresentavam peso adequado para a idade gestacional, pequenos para idade gestacional (PIG) e restrição do crescimento fetal (RCF), diagnosticados por ultrassonografia. Realizamos a dosagem de Vitamina D, que foi avaliada pelo método de quimioluminescência. Além disso, para as variáveis numéricas foi ajustado o modelo de análise de variância com um fator fixo e o método de comparações múltiplas de Tukey; para comparar os grupos quanto às variáveis categóricas foi usado o Teste exato de Fisher. **Resultados:** Foi coletado o sangue periférico de cem gestantes, sendo que treze casos foram excluídos. Não se observou diferenças estatísticas entre os grupos ($p=0,672$), porém, observamos maior concentração de vitamina D em gestantes com fetos acometidos pela RCF em relação aos demais grupos (RCF: 24,80 ng/mL vs. PIG: 23,61 ng/mL vs. AIG: 22,47 ng/mL). **Conclusão:** Não foi encontrada diferença estatística na dosagem de Vitamina D entre os fetos com peso abaixo do percentil 10.

Palavras-chave: Feto, Pequeno para idade gestacional, Restrição do Crescimento Fetal, Vitamina D.

ABSTRACT

Vitamin D evaluation in pregnant weights below 10 percent

Objective: To evaluate the vitamin D dosage in pregnant women with small fetuses for gestational age (SGA) and with fetal growth restriction (FGR). **Methods:** This was a cross-sectional prospective case-control study in which pregnant women with gestational age between 26 and 36 weeks were selected, with fetuses that had adequate weight for gestational age (AGA), small for gestational age (SGA) and fetal growth restriction (FGR), diagnosed by ultrasound. We performed the dosage of Vitamin D, which was evaluated by the chemiluminescence method. In addition, for the numerical variables, the variance analysis model with a fixed factor and Tukey's multiple comparisons method were adjusted; To compare the groups for categorical variables, Fisher's exact test was used. **Results:** Peripheral blood was collected from 100 pregnant women, and thirteen cases were excluded. No statistical differences were observed between the groups ($p=0.672$); however, we observed a higher concentration of vitamin D in pregnant women with fetuses affected by FGR compared to the other groups (FGR: 24.80 ng/mL vs. SGA: 23.61). ng/mL vs. AGA: 22.47ng/mL). **Conclusion:** No statistical difference was found in Vitamin D dosage between fetuses with weight below the 10th percentile.

Keywords: Fetus, Small for gestational age, Fetal growth restriction, Vitamin D

1 INTRODUÇÃO

A restrição do crescimento fetal (RCF) é definida quando o peso fetal está abaixo do percentil 10 (p10), conceito mais utilizado para classificar um feto como portador de RCF, segundo o *American College of Obstetrics and Gynecology* (ACOG)⁽¹⁾, e constitui intercorrência que acomete de 5 a 10% das gestações⁽²⁾, sendo a segunda principal causa de mortalidade perinatal, responsável por cerca de 30% dos natimortos, além de determinar maior frequência de nascimentos prematuros e asfixia intraparto.

Todavia, essa classificação abrange o grupo dos fetos pequenos para a idade gestacional (PIG) e o grupo dos com restrição, sendo que há estimativa de que 70% deles abaixo do p10 são PIG, sem prejuízo no seu potencial genético de crescimento; esse critério se demonstrou muito sensível, mas pouco específico.⁽³⁾

Os fetos com RCF têm seu desenvolvimento comprometido por processos patológicos placentários que prejudicam a sua nutrição e oxigenação; também está associada a complicações neonatais incluindo aspiração meconial, distúrbios metabólicos e hematológicos, disfunção cognitiva e paralisia cerebral.⁽⁴⁾ Já os PIG são aqueles que possuem morbimortalidade semelhante ao grupo dos considerados adequados para a idade gestacional (AIG) e que, provavelmente, são menores por fatores constitucionais, como influência genética e étnica.

Em longo prazo também foram identificados como maior chance de desenvolver síndrome metabólica na vida adulta, os indivíduos que nasceram PIG⁽⁵⁾ e os que enfrentaram a restrição do seu potencial de crescimento na vida intrauterina.⁽⁶⁾

Estima-se que a hipóxia/acidemia estão presentes em 30% dos fetos com RCF.⁽⁷⁾ Infelizmente não existe, na atualidade, intervenção terapêutica efetiva capaz de reverter nem ao menos interromper o curso progressivo da insuficiência placentária. O acompanhamento consiste em aperfeiçoar a assistência e decidir o momento apropriado do parto, confrontando os riscos inerentes à prematuridade e aqueles decorrentes da acidemia com a permanência intrauterina. Enquanto adotamos a conduta obstétrica expectante, monitora-se a vitalidade fetal por intermédio de exames propedêuticos como a ultrassonografia, a cardiotocografia anteparto, a dopplervelocimetria e o perfil biofísico fetal.⁽⁸⁾

Uma das definições mais utilizadas é a avaliação do percentil do peso fetal estimado (PFE) pela curva de Hadlock⁽⁹⁾, que avalia o diâmetro biparietal, a circunferência cefálica e abdominal (CA), além do comprimento do fêmur como principais medidas fetais para determinarmos o peso fetal.

Em 2016, um consenso para RCF que agregou a opinião de vários pesquisadores foi publicado, utilizando a metodologia intitulada Delphi⁽¹⁰⁾, na qual uma série de questionários foi direcionada para os principais grupos que estudam este tema. Embora baseada em opinião de especialista, esta publicação objetivava homogeneizar os conceitos e sua maior contribuição foi tentar abranger os fetos acima do p10 que também tiveram insucesso em atingir seu potencial de crescimento e excluir dessa definição os fetos PIG, de provável origem constitucional. Tal distinção é importante, pois poderíamos acompanhar adequadamente as gestações de alto risco, tranquilizar as pacientes com fetos classificados como PIG e diminuir os custos em relação ao acompanhamento ultrassonográfico.

O consenso definiu como RCF precoce a que é diagnosticada com menos de 32 semanas de gestação e como RCF tardia a com diagnóstico a partir de 32 semanas.⁽¹⁰⁾ Ambas as definições excluem as anormalidades congênitas.

Foram adotados por tal Consenso, critérios que podem ser utilizados isolados ou associados, a partir de dados biométricos fetais e dopplervelocimétricos, conforme podem ser reconhecidos na tabela 1.

Tabela 1 – Critérios para diagnóstico de RCF precoce e tardio

RCF Precoce (<32 Semanas)	RCF Tardia (≥32 Semanas)
PFE ou CA < P3 ou Diástole zero na AU	PFE ou CA < P3
PFE ou CA <10 associado:	Pelo menos 2 dos 3 seguintes:
<ul style="list-style-type: none"> • IP da AU > P95 e/ou • IP médio das AA Ut > P95 	<ul style="list-style-type: none"> • PFE OU CA < P10 • Queda de mais de 2 quartis do PFE • RCP < P5

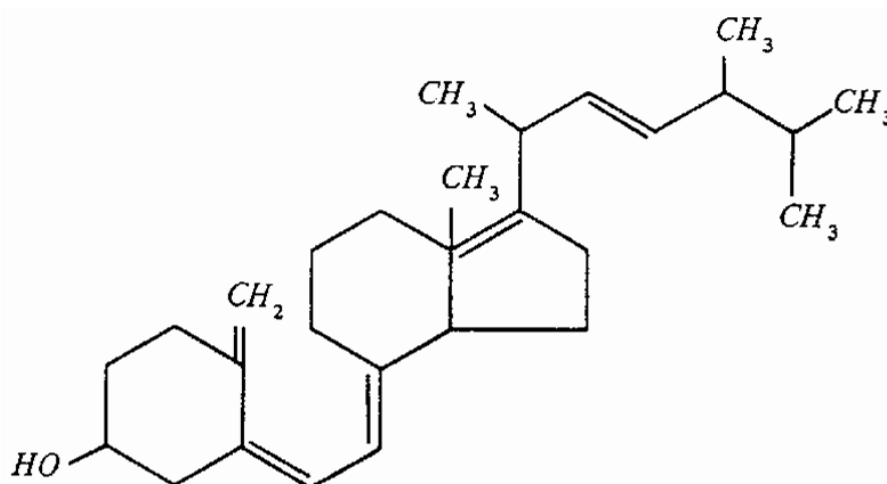
AU: artéria umbilical; AA Ut: artérias uterinas; RCP: Relação cérebro-placentária; IP: Índice de pulsatilidade; PFE: peso fetal estimado, CA: circunferência abdominal

A escolha de 32 semanas para diferenciar a RCF precoce da tardia no consenso parece razoável, pois a hipertrofia das células fetais se inicia aproximadamente nessa data, e a importância dada à CA se justifica pela diminuição do fígado, com redução do armazenamento de glicogênio associada à diminuição do tecido adiposo no abdome. ⁽¹¹⁾

Esse conceito foi utilizado na presente pesquisa para individualizar os nossos grupos de estudo, pois sugere parâmetros objetivos e modernos e assim, eventualmente, conseguiremos reconhecer diferenças entre as gestantes com fetos de peso estimado adequado para a idade gestacional ou com desvios do seu crescimento, classificando como com restrição ou como FIG.

Alguns fatores foram identificados como associados a desvios de crescimento fetal como: tabagismo ⁽¹²⁾ e distúrbios nutricionais maternos. ⁽¹³⁾

Entre os aspectos nutricionais da genitora se destaca a deficiência de Vitamina D. ⁽¹⁴⁾



Vitamina D
(calciferol)

Figura 1 – Estrutura Química da Vitamina D.

A Vit D é um esteroide envolvido na absorção intestinal do cálcio e na regulação da homeostasia do cálcio, sendo essencial à formação e manutenção de ossos fortes e saudáveis. A deficiência de vitamina D pode ser decorrente da inadequada exposição ao sol, da ingesta alimentar ineficaz, da diminuição da sua absorção, do metabolismo anormal da Vit D. Recentemente, muitas doenças crônicas, como o câncer, a hipertensão, a osteoporose e várias outras autoimunes, têm sido associadas à deficiência de Vit D.⁽¹⁵⁾

Para o ser humano, existem duas fontes de Vit D: a) exógena, fornecida pela dieta sob a forma de vitamina D₂ e D₃; b) a produção endógena, o colecalciferol (D₃), principal fonte de Vit D, que é sintetizado na pele por ação da radiação ultravioleta B (UVB) pela fotólise do 7-deidrocolesterol e transformação em vitamina D₃. A exposição suficiente à luz solar ou radiação UVB é a de até 18UI/cm² em 3 horas. Este processo transcorre em duas etapas: a primeira ocorre na derme e consiste na fotoconversão do 7-deidrocolesterol em pré-vitamina D₃ ou pré-calciferol (Figura 2).

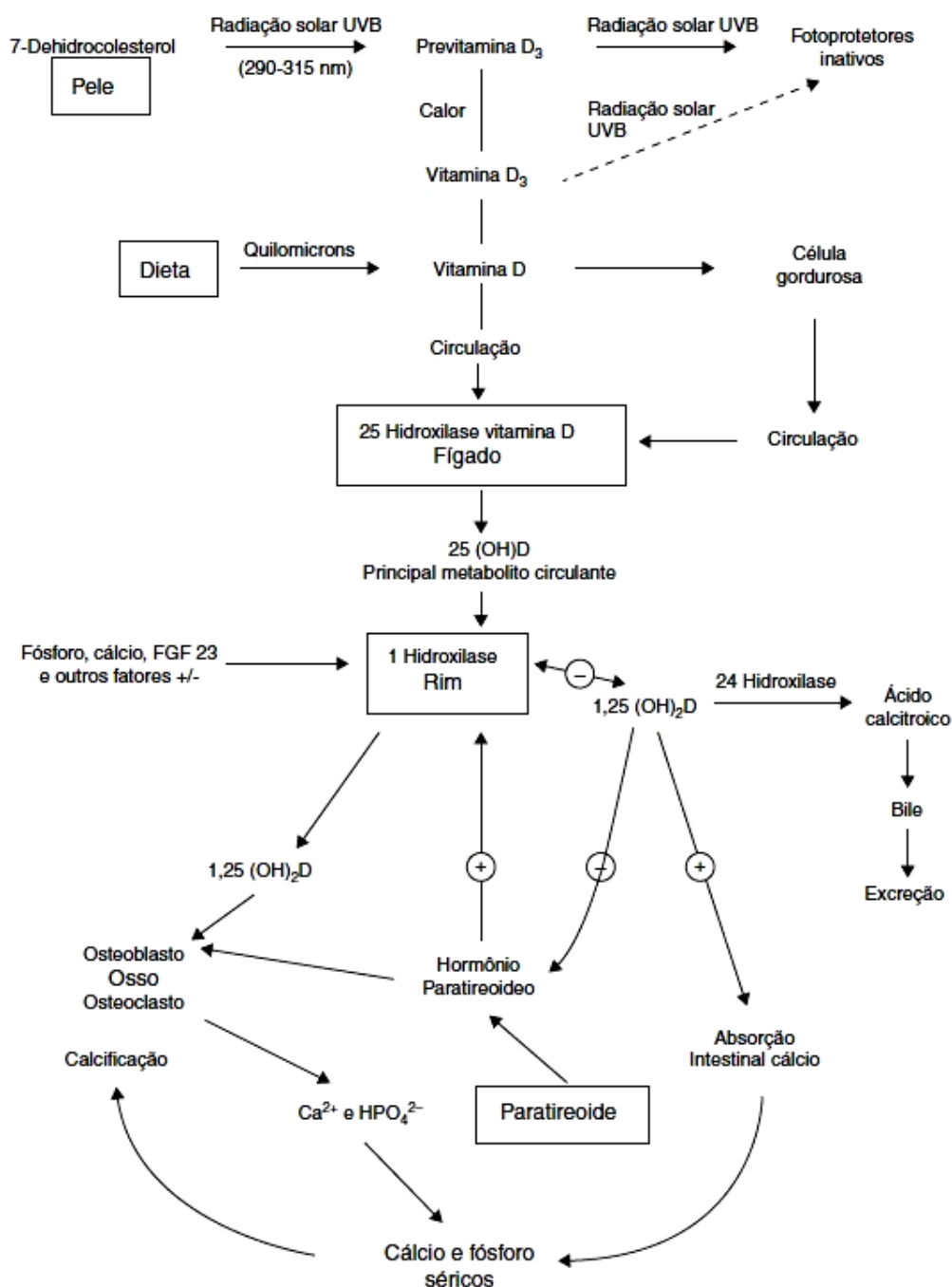


Figura 2 – Síntese e metabolismo da vitamina D assim como sua ação na regulação dos níveis de cálcio, fósforo e metabolismo ósseo.⁽¹⁶⁾

Na segunda etapa, há isomerização química dependendo da temperatura corporal, e a pré-vitamina D se transforma lenta e progressivamente em vitamina D₃, que tem alta afinidade pela proteína transportadora de Vit D (DBP) e a pré-

vitamina D, com menor afinidade de ligação, permanece na pele. Ao chegar à rede capilar cutânea, a Vit D é transportada ao fígado, unida à DBP, onde inicia sua transformação metabólica.⁽¹⁶⁾

Os dois tipos de Vit D sofrem processamentos complexos para serem metabolicamente ativos. Inicialmente, o pré-hormônio sofre hidroxilação no fígado, no carbono 25 por ação da 25-vitamina D 1-hidroxilase (1-OHase), que compõe um sistema enzimático dependente do citocromo P-450 (CYP27B) presente nas mitocôndrias e microssomas hepáticos e origina a 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], a forma circulante mais abundante de Vit D. Sua concentração sanguínea média é 20-50ng/ml (50-125nmol/L) e tem vida média de aproximadamente 3-4 semanas. Estima-se que seu *pool* circulante esteja em equilíbrio dinâmico com as reservas de 25(OH)D (músculo e tecido adiposo), o que torna a concentração sanguínea fidedigna do estado das reservas de Vit D no organismo. Em situações de normalidade, a percentagem de conversão a 25(OH)D é baixa, com distribuição de quase 50% nos compartimentos gorduroso e muscular. Havendo ingestão em excesso de Vit D, a maior parte é fixada nos depósitos graxos.⁽¹⁶⁾

Como a 25(OH)D possui baixa atividade biológica, é transportada ao rim, onde sofre a segunda hidroxilação, obtendo-se as formas ativas: o calcitriol -1,25-dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂D] e o ácido calcitróico -24,25 dihidroxivitamina D [24,25(OH)₂D] pela ação respectiva das enzimas 1-OHase e da 24-vitamina D-hidroxilase (24-OHase), presentes nas mitocôndrias das células do túbulo contornado proximal. A DBP e a 25(OH)D são filtradas pelo glomérulo e absorvidas no túbulo proximal por receptores de lipoproteína de baixa densidade, que regulam a captação do complexo 25(OH)D-DBP dentro das células do tubo e a posterior hidroxilação da 1,25(OH)₂D.

Numerosos fatores regulam os níveis de 1,25(OH)₂D: a 1-OHase, cuja hidroxilação é ativada pelo paratormônio e a calcitonina, e é inibida pelos níveis plasmáticos de cálcio, fósforo e da própria 1,25(OH)₂D, com vida média é de 15 dias. A concentração sanguínea de fósforo atua de forma direta, sem intervenção do paratormônio, a hipofosfatemia aumenta a produção de 1,25(OH)₂D⁽¹⁶⁾ (Figura 2)

Estudos recentes enfatizam a importância de papéis não clássicos da Vit D na gestação e na placenta e relacionam a deficiência de Vit D na gravidez à pré-eclâmpsia⁽¹⁷⁾, resistência à insulina⁽¹⁸⁾, diabetes gestacional⁽¹⁹⁾, vaginose bacteriana⁽²⁰⁾, aumento da prematuridade⁽²¹⁾ e descolamento prematuro da placenta, além da restrição do crescimento fetal.

Reconhece-se, hoje, que a nutrição no início da vida e outros fatores ambientais desempenham papel-chave na patogênese e na predisposição de doenças, que parecem se propagar às gerações subsequentes. As modificações epigenéticas estabelecem uma ligação com o estado nutricional durante períodos críticos do desenvolvimento e provocam mudanças na expressão gênica que podem levar ao desenvolvimento de fenótipos de doenças.

Não está bem esclarecido ainda se a Vit D interfere no crescimento do feto, em particular naqueles casos onde há restrição do crescimento.⁽²²⁾ Neste sentido, esse estudo tem como objetivo principal avaliar a Vitamina D nas gestantes cujos fetos foram classificados como pequenos para a idade gestacional e com restrição do crescimento.

Comparar a concentração sérica da vitamina D nas gestantes cujos fetos foram classificados com peso adequado para idade gestacional (AIG), pequenos para a idade gestacional (PIG) e com restrição do crescimento (RCF).

3 ANÁLISE DA LITERATURA

A deficiência materna de vitamina D tem sido associada a inúmeros resultados adversos para a saúde, mas sua relação com os fetos pequenos para a idade gestacional permanece incerta.

Estudos de base populacional têm confirmado que a deficiência de Vit D é considerada um problema de saúde pública comum em todo o mundo, especialmente nos países em desenvolvimento, atingindo todos os grupos etários, particularmente mais preocupantes em gestantes.

Em 2010, Bodnar et al.⁽²³⁾ buscaram elucidar a associação entre as concentrações séricas maternas de 25-hidroxivitamina D [25(OH) D] na gravidez precoce e o risco de fetos pequenos para idade gestacional.

Realizaram um estudo de caso-controle de gestantes nulíparas com gestação única, que deram à luz a neonatos PIG (peso abaixo do percentil 10) e AIG. As mulheres foram seguidas de 16 semanas de gestação até o parto. As amostras de sangue das mulheres, com menos de 22 semanas, foram recentemente medidas para 25(OH)D.

A associação entre a Vit D e o risco de PIG variou em relação a raça/etnia ($p=0,01$). Entre as mães brancas, com menos de 22 semanas, o nível de 25(OH)D não teve diferença entre os casos de PIG [73,2 (69,7 - 76,8) nmol/L] e controles [71,5 (64,0, 79,9) nmol/L].

No entanto, após o parto, as genitoras de etnia branca, que deram à luz a recém-nascidos pequenos para a idade gestacional foram mais propensas que as controles a apresentar níveis séricos de 25(OH)D menor que 37,5 nmol/L (deficiência) e maior que 75 nmol/L (suficiência) ($p<0,0001$), respectivamente.

Houve uma relação entre a concentração sanguínea de 25(OH)D e o risco de PIG entre as mulheres brancas, achado não identificado nas mulheres negras. Com base nesses resultados, sugere-se que a vitamina D tem uma relação complexa com o crescimento fetal e que pode variar de acordo com a raça.⁽²³⁾

Em 2011, Robinson et al.⁽²⁴⁾ desenvolveram um estudo com o objetivo de identificar a associação entre os níveis de Vit D e a ocorrência de PIG em pacientes com pré-eclâmpsia grave de início precoce.

As gestantes, com essa expressão clínica, foram recrutadas e as amostras plasmáticas coletadas (n=56), se observou que a 25 (OH)D foi menor em pacientes com PIG (16,8 ng/mL [8,9–23]) do que com crescimento fetal adequado (25,3ng/mL [16–33]) (p=0,02). A 25(OH)D foi significativamente correlacionado com o crescimento de percentil no momento do parto (p=0,31, p=0,02).

Nesta investigação puderam associar a deficiência de Vit D com o aumento do risco de pré-eclâmpsia e do seu diagnóstico na expressão clínica grave e precoce.

O nível sérico da Vit D foi menor entre os pacientes com PIG e diagnóstico de pré-eclâmpsia precoce, do que aqueles sem déficit do crescimento. Suspeitaram que a vitamina D possa ter impacto no crescimento fetal associado a insuficiência placentária.⁽²⁴⁾

Gernand et al.⁽²⁵⁾, em 2013, acreditavam que a deficiência materna de vitamina D estava associada à restrição do crescimento fetal, mas os mecanismos envolvidos não eram claros. Testaram a hipótese de que a 25 (OH)D materna estaria associada risco aumentado de insuficiência placentária.

O estudo fez parte de uma grande investigação sobre a Vit D e os resultados adversos da gravidez.

As gestantes iniciaram o pré-natal antes de 26 semanas e amostra de soro armazenada. A idade gestacional ao nascer de 20 a 42 semanas (n=28.429). Destas gestações, 3.074 foram selecionadas aleatoriamente para avaliação do nível sérico 25(OH)D e foram incluídas apenas nascimentos a termo (n=2.413) porque estavam interessados na contribuição da patologia para o crescimento fetal. Excluíram indivíduos sem exames de patologia placentária macroscópica e microscópica (n=287) e gestações para as quais o soro selecionado era inadequado para a medição da vitamina D (n=79). A amostra analítica final foi 2.048, nascidos a termo de 2.030 mães.

No início do estudo, as mulheres eram jovens e casadas; quase metade das mulheres era fumante. O nível da Vit D, 22,3% das mulheres com concentrações de 25(OH)D <30nmol/L, 55,4% das mulheres com concentrações de 25(OH)D <50 nmol/L e 86,3% das mulheres com 25(OH)D concentrações

<80nmol/L. Os bebês do sexo masculino eram mais pesados e mais altos que os do sexo feminino ao nascer, mas o 25(OH)D materno não diferiu por sexo do recém-nascido ($P=0,59$). A patologia vascular da placenta estava presente em 11,7% das gestações ($n=240$); a incidência apareceu mais nos meninos do que nas meninas, mas a diferença não foi estatisticamente significativa (13,1% em comparação com 10,4%, respectivamente; $P=0,058$).

O resultado foi a relação entre 25(OH)D e dano vascular sendo modificada pelo sexo do recém-nascido. Uma concentração materna de 25(OH)D maior e igual a 80nmol/L em comparação com a concentração abaixo de 50 nmol/L foi associada com 49% menor risco de RCF em meninos.

Não foram observadas associações entre a 25(OH)D materna e o distúrbio vascular em mães com fetos femininos. Não foi observada associação entre insuficiência placentária e o peso ao nascer em mães de meninas com concentrações de 25(OH)D maior ou igual a 30nmol/L ou em meninos, independentemente do estado materno de 25(OH)D.⁽²⁵⁾

Em 2014, Gernand et al.⁽²⁶⁾ analisaram a associação entre as concentrações séricas maternas de 25-hidroxivitamina D no sangue materno e o risco de PIG em recém-nascidos.

Estudaram o sangue entre 12-26 semanas de gestação de 25-hidroxivitamina D em amostra de participantes do ensaio clínico multicêntrico, que avaliou a ingestão de aspirina em baixa dose para prevenção da pré-eclâmpsia em mulheres de alto risco ($n=792$). Para avaliar a associação entre a 25-hidroxivitamina D e o risco de PIG, foram avaliados fatores como obesidade materna, raça e uso de aspirina.

Os resultados obtidos foram que treze por cento dos neonatos foram classificados como PIG ao nascer. Os níveis séricos de 25(OH)D foram menores em mulheres que apresentaram PIG (57,9 [29,9] nmol/L) comparadas com neonatos AIG n (64,8 [29,3] nmol/L) $P=0,02$. Nos modelos estudados, a 25(OH)D maior que 50nmol/L comparada com menor que 30nmol/L foram associadas a 43% (intervalo de confiança de 95% [IC] 0,33-0,99) e 54 % (IC 95% 0,24 -0,87) no risco de PIG, respectivamente.

A raça e a obesidade materna modificaram esta associação. As mulheres brancas com 25-hidroxivitamina D de 50nmol/L ou superior em comparação com menos de 50nmol/L tiveram redução de 68% (razão de risco ajustada [RR] 0,32, IC 95% 0,17-0,63) no risco de PIG e mulheres não obesas com 25-hidroxivitamina D de 50nmol/L ou superior comparado com menos de 50nmol/L apresentou redução de 50% no risco PIG.

Não houve associação entre a 25-hidroxivitamina D e o risco de PIG em mães negras ou obesas.

O estado materno de vitamina D no segundo trimestre está associado ao risco de PIG em todas as mulheres e nos subgrupos de mulheres brancas e não obesas.⁽²⁶⁾

Khalessi et al.⁽²⁷⁾, em 2015, estudaram que a hipovitaminose materna D poderia prejudicar o crescimento fetal e causar resultados adversos na gravidez, incluindo RCF e PIG.

Neste estudo, o nível médio de Vit D materna foi de 31,46nmol/L. Quarenta e oito por cento das mães tinham deficiência de vitamina D, 27,5% apresentavam insuficiência e 24,5% eram normais. O nível médio de vitamina D materna cujos neonatos apresentaram baixo peso ao nascer foi menor quando comparado com os de peso adequado. Todas as mães de neonatos com perímetro cefálico menor ou igual a 33 cm também apresentaram deficiência de Vit D.

Demonstrava, ainda, que a deficiência materna de vitamina D pode aumentar o risco de recém-nascidos de baixo peso ao nascer e modificar o comportamento nutricional materno e o seu nível de vitamina D pode ser benéfico no resultado da gravidez.⁽²⁷⁾

Em 2016, Miliku et al.⁽²⁸⁾, analisaram as concentrações maternas de vitamina D durante a gravidez, padrões de crescimento fetal e riscos de desfechos adversos ao nascimento, e concluíram que as baixas concentrações maternas de 25(OH)D estão associadas com RCF e com risco aumentado de nascimento prematuro e PIG, sendo necessários mais estudos para investigar a causalidade dessas associações e o potencial para intervenções de saúde pública.

Wookey et al.⁽²⁹⁾, em 2017, investigaram se a expressão da proteína de ligação à vitamina D está alterada na disfunção placentária associada à RCF. A proteína foi extraída de 35 placentas derivadas de 17 mulheres saudáveis e 18 que tiveram RCF. Os com RCF foram ainda subdivididos como idiopáticos (n=9) e não-idiopáticos (n=9). A proteína de ligação à vitamina D e a 25(OH) vitamina D foram medidas por ELISA e normalizadas para a concentração de proteína.

Os resultados mostraram níveis significativamente reduzidos de proteína placentária de ligação à vitamina D, que foram fortemente associados à restrição idiopática do crescimento fetal.

Como tal, a proteína de ligação à vitamina D pode ser um fator na disfunção placentária inexplicada, associada à restrição do crescimento fetal idiopático e pode potencialmente servir como marcador desta doença.⁽²⁹⁾

Em uma publicação de 2018⁽³⁰⁾, Linnea Bärebring e seus colaboradores investigaram as associações entre o nível da Vit D no início e no final da gravidez com recém-nascidos pequenos para idade gestacional, baixo peso ao nascer (BPN) e parto prematuro.

A comparação da Vit D sérica entre 1º e 3º trimestre foi inversamente relacionada com o PIG, parto prematuro e BPN. Comparam às mulheres que atingiram níveis suficientes de 25(OH)D (≥ 30 nmol/L) com as mulheres que diminuíram os níveis, viram que estas tiveram, significativamente, os filhos pequenos para a idade gestacional (OR=3,7, $p=0,002$), com BPN (OR=4,7, $p=0,014$), bem como uma tendência para parto prematuro (OR=2,9, $p=0,061$).

Já, comparando as mulheres com um pequeno aumento de 25(OH)D (0-30 nmol/L) viram que as mesmas tiveram maior chance de PIG (OR=2,6, $p=0,019$) e parto prematuro (OR=2,9, $p=0,047$), bem como uma tendência de recém-nascido com baixo peso (OR=3,1, $p=0,056$).

Deste modo, mulheres com aumento de 25(OH)D ≥ 30 nmol/L do primeiro para o terceiro trimestre tiveram as menores chances de PIG, BPN e parto prematuro.

Em 2019, Maugeri et al.⁽³¹⁾ em uma busca sistemática da literatura no PubMed-Medline, EMBASE e Cochrane, avaliaram a suplementação de Vit D na gravidez por via oral e o peso ao nascer, comprimento, perímetro cefálico e PIG. Os efeitos fixos ou aleatórios foram usados para calcular a diferença média (MD), razão de risco (RR) e intervalo de confiança de 95% (IC). Num total de 13 ensaios clínicos randomizados (ECR), suplementação materna teve um efeito positivo no peso ao nascer (12 ECR; MD = 103,17g, 95% CI 62,29-144,04g), comprimento (6 ECR; MD = 0,22 cm, 95% CI 0,11-0,33 cm) e circunferência da cabeça (6 ECR; MD: 0,19 cm, IC 95% 0,13 ± 0,24 cm). De acordo com estes resultados, eles também demonstraram que a suplementação materna de Vit D reduziu o risco de BPN. (3 ECR; RR = 0,40, IC 95% 0,22-0,74) e PIG (5 ECR; RR = 0,69, IC 95% 0,51-0,92) A presente revisão sistemática e metanálise mostrou o efeito bem estabelecido entre a suplementação de Vit D durante a gestação e o tamanho do recém-nascido.

Desta maneira, o interesse em estudar fetos com restrição de crescimento é estimulado pelas diversas evidências que mostram que a RCF está associada à deficiência de vitamina D favorecendo o aumento da mortalidade e morbidade perinatal.

4 PACIENTES E MÉTODO

Trata-se de um estudo prospectivo transversal do tipo caso-controle, realizado a partir de coleta de sangue periférico em pacientes com fetos que apresentam peso adequado para a idade gestacional, pequeno para a idade gestacional e restrição do crescimento diagnosticada segundo a metodologia Delphi.⁽¹⁰⁾

As mesmas foram triadas no Ambulatório de Restrição do Crescimento Fetal do Departamento de Obstetrícia da Escola Paulista de Medicina – Universidade Federal de São Paulo e no Pronto Atendimento do Hospital Guilherme Álvaro – Centro Universitário Lusíada, Santos-SP.

O material coletado foi obtido no período de novembro de 2016 a julho de 2019. As pacientes que preencheram os critérios de inclusão e que espontaneamente aceitaram participar do estudo, após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1), foram encaminhadas para preenchimento da ficha cadastral (Anexo 2) e para coleta de material.

Este estudo foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), que nos deu parecer favorável em 29/03/2017, número: 2.004.104 (Anexo 3) e recebeu fomento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), número: 2016/10645-7 (Anexo 4).

Para o estudo ora citado, foram selecionadas 100 pacientes. Dentre elas, 38 constituíram o grupo controle (AIG), 24 fizeram parte do grupo FIG, 25 do grupo RCF e 13 amostras foram perdidas.

4.1 Pacientes

Foram constituídos três grupos:

- Grupo CONTROLE formado por gestantes com fetos AIG;
 - Grupo RCF;
 - Grupo FIG.
-

4.1.1 Critérios de inclusão

- Gestação única;
- Feto vivo;
- Idade gestacional entre 26 – 36 semanas;

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo gestantes:

- Em trabalho de parto;
- Com fetos malformados;
- Com doenças clínicas como: hipertensão, diabetes, distúrbios autoimunes, vasculares e cardiopatias.

4.1.3 Variáveis avaliadas

Na caracterização das pacientes apuramos as seguintes variáveis maternas para os grupos controle e de estudo:

- *Faixa Etária*: expressa em número de anos completos e determinada a partir do cálculo considerado em sua data de nascimento.
 - *Peso*: expressa em quilograma (kg) e determinada pela anotação da última consulta de pré-natal.
 - *Altura*: expressa em metros (m) e determinada pela a anotação da consulta de pré-natal.
 - *Índice de Massa Corpórea (IMC)*: expressa em kg/m^2 e determinada dividindo-se o peso da paciente pela altura elevada ao quadrado.
 - *Idade Gestacional*: expressa em semanas e determinada pela data da última menstruação da paciente e confirmada pela ultrassonografia precoce, menor que 12 semanas.
 - *Consumo de peixe*: considerado positivo se consumido um filé (150 g), três vezes por semana ou mais.
-

- *Exposição solar*: considerado positivo se exposta ao sol por pelo menos 20 minutos ao dia.
- *Proteção solar*: considerado positivo o uso de protetor solar diariamente.
- *Reposição de Vitamina D*: considerado positivo o uso de polivitamínicos e uso de vitamina D isolada.
- *Tabagismo*: considerado positivo o consumo de pelo menos um cigarro ao dia.

4.2 Método

4.2.1 Exame de ultrassonografia

Realizamos um exame ultrassonográfico obstétrico utilizando técnica transabdominal em um aparelho WS80 (Samsung Corp., Seoul, South Korea), no qual foi avaliado, por especialista em Medicina fetal, entre outros parâmetros, o diâmetro biparietal, a circunferência cefálica e abdominal e o comprimento do fêmur, sendo as principais medidas fetais para determinarmos o peso fetal, conforme Hadlock et al.⁽³²⁾ e o percentil que o mesmo se encontra. A avaliação da vitalidade fetal será feita pela dopplervelocimetria da artéria umbilical e artéria cerebral média e a análise do compartimento materno foi realizado através do estudo dopplervelocimétrico das artérias uterinas, segundo Arduini.⁽³³⁾

O diagnóstico de dopplervelocimetria da artéria uterina alterado foi considerado nos casos que apresentaram índice de pulsatilidade média acima do p95, segundo a tabela de Eduard Gratacós.⁽³⁴⁾

A avaliação do líquido amniótico foi feita com a paciente em posição supina, divisão do útero em quatro quadrantes iguais, transdutor perpendicular ao plano do chão e alinhado longitudinalmente com a gestante e a somatória dos quatro maiores bolsões de cada quadrante.⁽³⁵⁻³⁶⁾

4.2.2 Coleta do material

Foi a coleta das amostras de sangue seguindo a precaução do padrão de biossegurança para a punção venosa, nas pacientes selecionadas.

Após a coleta, o material hemático foi homogeneizado por inversão de 5 a 8 vezes, acomodado em tubo vedado e mantido em posição vertical por 30 minutos.

Depois da coagulação sanguínea completa foi feita a centrifugação a 3000 rpm durante 15 minutos.

Não foram utilizadas amostras que tenham estado conservadas à temperatura ambiente durante mais de 24 horas.

Após a coleta e a centrifugação, as amostras foram armazenadas em uma caixa de isopor com termogel dentro e encaminhada ao laboratório imediatamente.

4.2.3 Princípios do procedimento

O ensaio ADVIA Centaur Vitamin D Total serve para utilização do diagnóstico *in vitro* da determinação quantitativa da vitamina D 25(OH) total em soro e plasma humanos.

O mesmo é um imunoensaio competitivo de uma única passagem de 18 minutos com anticorpos que utiliza um anticorpo anti-fluoresceína monoclonal de rato ligado por covalência a partículas paramagnéticas, um anticorpo anti-vitamina D 25(OH) monoclonal de rato marcado com éster de acridina e um análogo de vitamina D marcado com fluoresceína.

4.2.4 Preparação dos reagentes

Os reagentes estavam em estado líquido e prontos a serem utilizados. Foram retirados todos os reagentes do *freezer* e misturados à mão, antes de colocá-los no sistema. A parte inferior da embalagem de reagente foi visualizada para certificação de que todas as partículas estejam dispersas e em suspensão.

As embalagens do reagente primário e auxiliares foram colocadas nas respectivas áreas de entrada. O sistema misturou automaticamente as embalagens dos reagentes primários para manter uma suspensão homogênea.

Os sistemas ADVIA Centaur e ADVIA Centaur XP executam automaticamente os seguintes passos:

- a) Distribui 20µl de amostra numa cuvete e deixa-os a incubar durante 15 segundos;
- b) Distribui 200µl de Reagente Auxiliar e deixa-os a incubar durante 4,5 minutos a 37°C;
- c) Distribui 50µl de Reagente Lite e deixa-os a incubar durante 5,5 minutos a 37°C;
- d) Distribui 100µl de Fase Sólida e 50µl de reagente de recipientes auxiliares e deixa-os a incubar durante 2,75 minutos a 37°C;
- e) Separa a fase sólida da mistura e aspira o reagente não ligado;
- f) Lava a cuvete com a solução de lavagem 1 e
- g) Distribui 300µl de reagente ácido e de reagente de base para iniciar a reação quimioluminescente.

Os sistemas ADVIA Centaur comunicam os resultados por e-mail, os dados foram transferidos para planilha do programa Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) e analisados pelo programa SPSS versão 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), os quais com base numa análise da literatura, as recomendações para os níveis de 25(OH)D são:

- Deficiência abaixo de 20ng/ml (50nmol/L);
- Insuficiência entre 20–30ng/ml (50–75nmol/L);
- Suficiência entre 30–100ng/ml (75–250nmol/L);
- Toxicidade acima de 100ng/ml (250nmol/L).

O sistema reporta os resultados da Vit D no soro e plasma em ng/ml (unidades comuns) ou em nmol/L (unidades do SI), dependendo das unidades definidas a quando da configuração do ensaio, porém em nosso estudo usamos os resultados em unidades comuns (ng/mL).

A fórmula de conversão é $1 \text{ ng/ml} = 2,5 \text{ nmol/L}$.

O ensaio ADVIA Centaur Vit D mede a vitamina D 25(OH) a partir de concentrações de 3,7 a 150 ng/ml (9,3 a 375 nmol/L).

4.3 Cálculo do tamanho amostral

Por se tratar de estudo com número limitado de testes para análise do nível sérico de Vitamina D, o tamanho amostral foi por conveniência. Dessa forma, foram analisados 38 casos no grupo controle, 24 no grupo dos pequenos para a idade gestacional, 25 no grupo com restrição do crescimento e 13 amostras perdidas, totalizando assim 100 coletas realizadas.

4.4 Análise estatística

Dados os objetivos do estudo em questão, a etapa inicial da análise consiste em descrever as variáveis de interesse; para isso foram construídas tabelas de frequências e gráficos, bem como foram calculadas medidas descritivas. Este procedimento permite conhecer o comportamento geral das variáveis, facilitando e enriquecendo as conclusões que serão obtidas ao final do estudo.

Do ponto de vista inferencial, para comparar os grupos com relação às variáveis numéricas do estudo, aplicou-se o modelo de análise de variância com um fator fixo e o método de comparações múltiplas de Tukey. Em se tratando de variáveis categóricas, empregou-se o Teste Exato de Fisher.

5 RESULTADOS

Os resultados referentes às variáveis peso, altura e IMC materno, idade materna e gestacional, no dia da coleta, estão explicados a seguir na tabela 2.

Foi empregado o modelo de análise de variância com um fator fixo e o método de comparações de Tukey.^(37,38)

Tabela 2 – Comparação das variáveis numéricas maternas nos três grupos avaliados

Grupo		Peso (kg)	Altura (cm)	IMC (kg/m ²)	Idade gestacional (semanas)	Idade materna (anos)
AIG	Média	69,41	1,61	26,57	31,08	25,26
	DP	14,59	0,07	4,37	2,87	8,4
	Mínimo	49,3	1,49	19,83	25,86	15
	Máximo	105,8	1,76	37,11	35,86	42
RCF	Média	65,24	1,59	26,24	32,17	25,48
	DP	13,1	0,07	4,66	3,16	7,52
	Mínimo	39	1,47	16,44	26,29	15
	Máximo	85,2	1,72	34,63	36	42
PIG	Média	65,28	1,58	26,09	33,01	25,04
	DP	10,99	0,07	3,94	2,59	8,44
	Mínimo	51	1,5	20,7	27,71	15
	Máximo	84,6	1,8	35,21	36,71	41
p*		0,695	0,017	0,922	0,038	0,983

*Análise de variância

AIG: adequado para idade gestacional; RCF: restrição do crescimento fetal; PIG: pequeno para idade gestacional; DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporal

Observando as tabelas e comparando os resultados, nota-se que temos grupos homogêneos, não havendo diferença significativa entre eles, apenas que:

- As pacientes do grupo Controle são, em média, 5cm mais altas que as do grupo PIG.
- A média de Idade gestacional das pacientes do grupo PIG é, em média, 1,9 semanas maior que a do grupo Controle.
- Não há elementos suficientes que indiquem diferença entre os grupos com relação às demais variáveis do estudo.

Ao estudarmos as variáveis na tabela de frequências (Tabela 3) é possível refletir que o consumo de peixe é baixo nos três grupos; comparando a exposição solar temos um resultado mais equilibrado, 59,8% das gestantes estudadas não tomam sol regularmente, 94,3% e 86,2%, não repõe Vit D e não são tabagistas, respectivamente. Nenhuma paciente declarou fazer uso de protetor solar.

Tabela 3 – Hábitos maternos em relação à ingestão de peixes, exposição solar, reposição de vitamina D durante a gestação e tabagismo entre os grupos analisados

	AIG		RCF		PIG		Total		P*
Peixe									0,233
Não	31	81,6%	20	80,0%	23	95,8%	74	85,1%	
Sim	7	18,4%	5	20,0%	1	4,2%	13	14,9%	
Total	38	100,0%	25	100,0%	24	100,0%	87	100,0%	
Exposição solar									0,925
Não	23	60,5%	14	56,0%	15	62,5%	52	59,8%	
Sim	15	39,5%	11	44,0%	9	37,5%	35	40,2%	
Total	38	100,0%	25	100,0%	24	100,0%	87	100,0%	
Reposição de vitamina D									0,999
Não	35	92,1%	24	96,0%	23	95,8%	82	94,3%	
Sim	3	7,9%	1	4,0%	1	4,2%	5	5,7%	
Total	38	100,0%	25	100,0%	24	100,0%	87	100,0%	
Tabagismo									0,325
Não	30	78,9%	23	92,0%	22	91,7%	75	86,2%	
Sim	8	21,1%	2	8,0%	2	8,3%	12	13,8%	
Total	38	100,0%	25	100,0%	24	100,0%	87	100,0%	

*Test Exato de Fisher $p < 0,05$

AIG: adequado para idade gestacional; RCF: restrição do crescimento fetal; PIG: pequeno para idade gestacional.

No que diz respeito a concentração de Vit D nos grupos estudados, a análise estatística não mostrou diferença significativa entre as gestantes portadoras de fetos com peso adequado, pequeno ou restrição do crescimento (Tabelas 4, 5 e Figura 3).

Tabela 4 – Medida descritiva da variável Vitamina D

Grupo		Vitamina D
Controle	Média	22,47
	Desvio-padrão	8,35
	Mínimo	10,80
	Máximo	42,60
RCF	Média	24,80
	Desvio-padrão	10,76
	Mínimo	10,40
	Máximo	50,00
PIG	Média	23,61
	Desvio-padrão	9,98
	Mínimo	8,30
	Máximo	39,50

*Análise de variância

DP: desvio padrão; min: mínimo; max: máximo; RCF: restrição do crescimento fetal; PIG: pequeno para idade gestacional;

Tabela 5 – Resultados da aplicação do modelo de análise de variância aos dados de interesse

Variável	Nível descritivo
Vitamina D	0,672

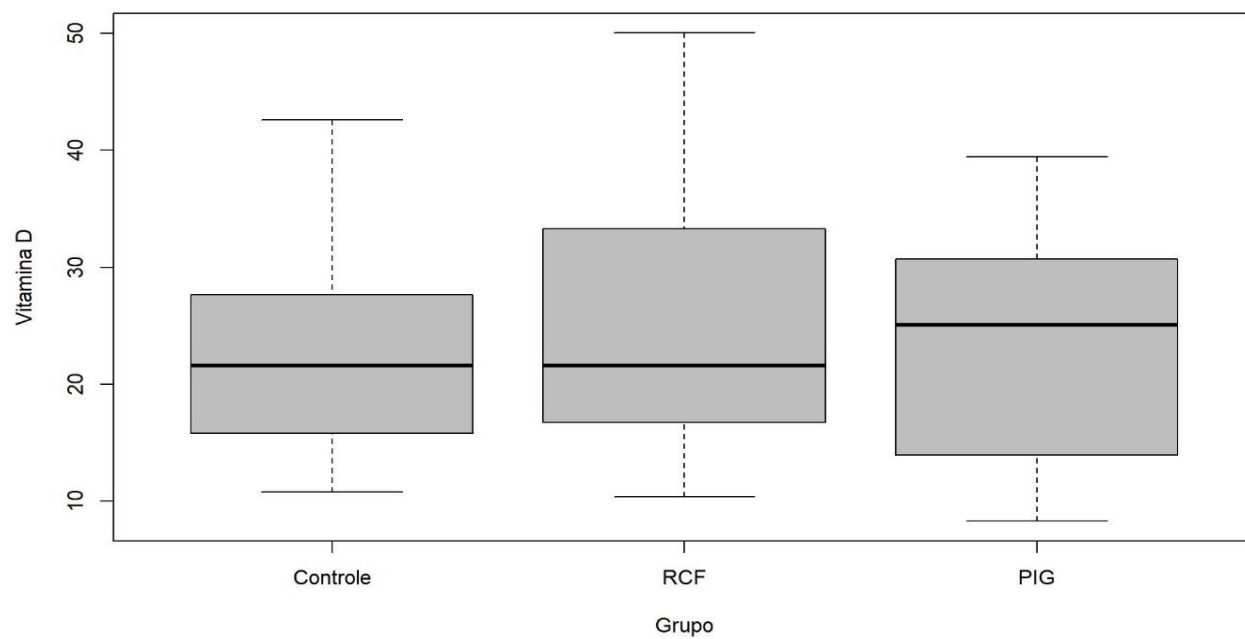


Figura 3 – Gráfico da Distribuição da variável Vitamina D.

A incapacidade do feto em adquirir o peso correspondente ao potencial genético aumenta a morbidade e a mortalidade perinatal; desta forma, a restrição do crescimento fetal é atualmente um dos campos que mais acarreta interesse científico.⁽³⁹⁾ Diferenciar restrição do crescimento do feto pequeno para idade gestacional continua sendo o nosso maior desafio.

Esta tese é um dos produtos do entusiasmo do Setor de Restrição do Crescimento Fetal da EPM-UNIFESP, representando um aspecto entre a multiplicidade de fatores relacionados a esta condição fetal, integrando uma ampla linha de pesquisa que produz conhecimento nesta área.

Investigações nacionais se revestem de importância peculiar nesta temática, porque podem, potencialmente, diminuir as diferenças de interpretação a partir de estudos desenvolvidos com outras populações, que possuem, eventualmente, hábitos nutricionais e outros de estilo de vida, que poderiam influenciar nas condutas e desfechos, embora reconheçamos a heterogeneidade étnica brasileira.

Um aspecto positivo de nossa pesquisa foi a semelhança entre os grupos estudados, investigando o consumo de peixe, a exposição e a proteção solar, a reposição de Vit D, o tabagismo e o IMC. Assim, podemos colaborar com uma nova interpretação mais favorável dos nossos resultados, pois atenua possíveis diferenças entre os indivíduos, que possam interferir, a partir de características nutricionais, antropométricas e de hábitos de vida.

O tabagismo materno causa nascimento de fetos pequenos para a idade gestacional, defeitos congênitos e outros resultados adversos na gravidez⁽⁴⁰⁾, por esse motivo incluímos o fato da gestante fumar ou não como uma variável do nosso estudo.

Sabemos que a RCF torna o feto mais propenso à morbimortalidade perinatal devido à falha do feto em atingir seu potencial de crescimento.^(41,42) Também aumenta o risco de consequências a longo prazo, como doença cardíaca coronária, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e síndrome metabólica.⁽⁴²⁻⁴⁴⁾ Portanto, o conhecimento de fatores extrínsecos predisponentes pode ajudar no

diagnóstico precoce. Com isto, também avaliamos o efeito de parâmetros maternos como índice de massa corporal (IMC), pois há pesquisas⁽⁴⁵⁾ que verificaram que mães com restrição do crescimento fetal apresentam IMC baixo em comparação com mães de fetos adequados. Porém, na nossa pesquisa não foi identificada associação entre valores de IMC e diferenças no potencial de crescimento fetal.

A reposição ou não da Vit D, também integra a em nossa análise e alguns estudos^(46,47) documentaram que a insuficiência de Vit D foi associada ao aumento do risco de pré-eclâmpsia, diabetes mellitus gestacional e pequena idade gestacional.

Durante a gravidez, a suplementação de vitamina D pode ser uma estratégia viável para ajudar a prevenir o baixo peso ao nascer e PIG⁽⁴⁸⁾; por esse motivo, o estudo visou avaliar a correlação desta substância e o crescimento fetal.

Esta pesquisa representou mais uma possibilidade de análise de condição da mulher brasileira, durante a gravidez quanto aos seus níveis séricos de vitamina D, considerando que não encontramos publicações recentes do Brasil com este escopo de pesquisa nas bases disponíveis, pelo menos nos últimos dois anos.

Estudos observacionais de todo o mundo continuam a encontrar altas taxas de prevalência de insuficiência e deficiência de vitamina D em muitas populações, incluindo mulheres grávidas. Além de sua função clássica como reguladora do metabolismo do cálcio e fosfato, a vitamina D provoca inúmeros efeitos no corpo humano.⁽⁴⁹⁾

As consequências de complicações maternas, fetais e neonatais, incluindo morte e incapacidade, constituem o maior fardo de doenças que afetam as mulheres nos países em desenvolvimento.

Estima-se que 9-10% das mulheres grávidas (cerca de 14 milhões) por ano sofrem de complicações maternas agudas em todo o mundo^(50,51), o que poderia eventualmente ser atribuída a distúrbios nutricionais, entre estes possivelmente a deficiência de vitaminas.

A função placentária é essencial para o desenvolvimento fetal e a sua insuficiência pode levar a hipóxia feto-placentária e a restrição do crescimento.⁽³⁹⁾

O déficit de Vitamina D em mulheres grávidas⁽⁵²⁻⁵⁴⁾ é uma grande preocupação para os resultados da gravidez. Numerosas associações potenciais foram relatadas entre vários resultados da gravidez e a aferição única da 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), a qual é a principal forma de armazenamento da vitamina D no ser humano; portanto, pode ser medida no sangue para determinar o status geral da vitamina D.

Nesse estudo transversal foi demonstrado baixo nível de vitamina D em mulheres grávidas com 26 a 36 semanas de gestação que vivem em um país tropical, Brasil, localizado entre o trópico de capricórnio e a linha do Equador, com sol abundante. A idade gestacional escolhida para a nossa amostra foi baseada na faixa entre a viabilidade fetal e a proximidade do termo.

No Sul da China⁽⁵⁵⁾, onde foi realizado um grande estudo observacional prospectivo, o clima é tropical e que se acredita ter exposição suficiente à radiação ultravioleta B e que estejam em uso regular de suplemento pré-natal, mostrou uma alta prevalência de baixo nível de vitamina D entre 16 e 20 semanas de gestação, muito semelhante com os resultados obtidos nesta análise.

Naquela pesquisa foram incluídas 1.953 gestantes que apresentaram o nível médio de 25(OH)D e 27,03 (DP: 7,92) ng/mL. No total, 18,9% apresentaram níveis deficientes, igual ou menor que 20 ng/mL e 48,6% das gestantes apresentaram valores insuficientes, entre 21-29 ng/mL.

Não houve diferenças significativas nos resultados mais adversos entre mulheres grávidas com diferentes níveis de Vitamina D entre 16 e 20 semanas de gestação, exceto pela maior prevalência de diabetes gestacional e parto prematuro em mulheres com alto nível de vitamina D.

Uma diferença da nossa amostra se deve ao fato do uso regular de vitamina D no pré-natal ser muito baixo nas pacientes estudadas; apenas 5,7% das gestantes analisadas faziam uso habitual.

Não foram observadas associações entre a variável Vit D e peso fetal; nota-se que a média dos valores encontrados são até superiores nas gestantes com fetos com o peso abaixo do percentil 10 daquelas com fetos de peso adequado.

Um outro aspecto do nosso trabalho a ser considerado é relacionado à época do parto nos três grupos incluídos, embora este não fosse o nosso foco principal, não identificamos uma diferença significativa quanto a idade gestacional ao nascimento relacionada ao nível sérico da Vit D materna, diferente da metanálise que incluiu estudos observacionais publicada em 2016, que apontou a maior chance de prematuridade quando a deficiência materna de Vitamina D estivesse instalada.⁽⁵⁶⁾

Não categorizamos a nossa amostra por etnia, o que seria um desafio peculiar na população estudada, considerando a subjetividade da auto declaração, bem como alguma dificuldade técnica para diversificar estes grupos, considerando a heterogeneidade brasileira neste aspecto. Portanto, não conseguimos reconhecer diferenças na concentração sérica da vitamina D ou desvios de crescimento fetal relacionadas a cor da pele, como apontado por Bodnar et al.⁽²³⁾

O presente estudo demonstrou alta prevalência (75,9%) de baixo nível de vitamina D nas mulheres grávidas avaliadas (dosagem deficiente e insuficiente de Vit D). Nossos dados mostraram que as mulheres grávidas com fetos com restrição do crescimento apresentaram nível sérico médio de 25(OH)D maior 24,80 DP:10,76 ng/mL) do que as com fetos adequados ($22,47 \pm 8,35$ ng/mL) e pequenos ($23,61 \pm 9,98$ ng/mL), porém sem significado estatístico; interessante reparar que a paciente que apresentou nível de 25(OH)D mais elevado (50,03 ng/ml), tem o feto no percentil abaixo de 1.

Observamos que o nível de vitamina D foi maior no grupo RCF, no entanto, os valores médios estavam dentro da insuficiência nos três grupos, impedindo-nos de tirar conclusões a respeito do status de vitamina D e o baixo peso fetal.

Ressalta-se que no nosso estudo, apenas 24,1% apresentavam níveis normais de vitamina D: 25% no grupo PIG, 18,4% no grupo AIG e 32% no grupo com RCF.

Apesar do crescente interesse nas relações entre o status da Vitamina D durante a gravidez e os resultados maternos e fetais, as análises dos relatórios anteriores são inconsistentes, talvez pelo valor reduzido de gestantes.

Os efeitos da hipovitaminose D da genitora no potencial de crescimento fetal foi apontada por metanálise que incluiu doze estudos envolvendo 19.027 mulheres com deficiência desta vitamina. Gestantes com deficiência de Vit D (25(OH)D <50 nmol / L) apresentaram um risco aumentado de PIG (OR = 1,41, IC de 95%: 1,14, 1,75). A concentração de vitamina D do grupo PIG foi menor que a do grupo não PIG (diferença média: -1,75 nmol / L, IC 95%: -3,23, -0,27). Os autores concluíram que a deficiência materna de Vit D durante a gravidez pode estar associada a um risco aumentado de PIG.⁽⁵⁷⁾

Publicação espanhola recente⁽⁵⁸⁾, que incluiu 54 estudos elegíveis, pode identificar que a deficiência da Vitamina D (<30ng/mL) esteve associada à PIG. Estes achados não foram reconhecidos do nosso trabalho, que não reconheceu tal associação, evocando ainda a possibilidade de eventual influência do nosso tamanho amostral. Além do desvio de ganho ponderal fetal, o estudo citado afrontou para a ocorrência de nascimento pré-termo, déficit de desenvolvimento mental e de linguagem quando a insuficiência da Vit D estava presente.

Durante a gravidez, as modificações gravídicas⁽⁴⁹⁾ promovem uma elevação dos níveis de vitamina D, principalmente devido ao aumento da produção renal, embora outras fontes potenciais como a placenta⁽⁵⁹⁾ estejam sendo discutidas.

A insuficiência de Vitamina D durante a gravidez tem sido consistentemente associada a resultados adversos na gravidez. Como dito anteriormente, baixo nível de vitamina D foi associado com um maior risco de pré-eclâmpsia, diabetes gestacional e outras patologias e da mesma forma, foram relatadas várias consequências negativas para o feto, incluindo restrição do crescimento fetal, aumento do risco de parto prematuro e alteração da suscetibilidade a doenças no futuro.

O consumo de peixe na dieta das nossas gestantes foi um hábito pouco evidenciado e analisando a literatura o peixe oceânico foi o fator dietético mais importante que afeta a concentração sérica de 25(OH)D em mulheres em vários países europeus, mas a gordura e a carne de animais também contribuem para esse aumento.⁽⁶⁰⁾

Identificar uma diferença significativa do nível sérico de Vitamina D entre os grupos incluídos no nosso estudo poderia contribuir para relacionar fatores isolados em uma possível fisiopatologia que favoreça desvios do crescimento fetal.

Compreendemos que embora isto não tenha ocorrido, a pesquisa que desenvolvemos não suporta preliminarmente a adoção de condutas que incluam intervenções objetivando a minimização de desvios do desenvolvimento fetal, como a suplementação de Vitamina D.

Tal informação, ao nosso ver, se reveste de relevância também, pois otimiza recursos, evita ansiedade desnecessária, bem como a prescrição de suplementos, em uma época em que se prioriza a segurança farmacológica, que envolve a ministração de agentes biológicos, apenas quando a relação risco e benefício está bem estabelecida.

Cientes do porvir de influencias na vida adulta a partir do legado da vida intrauterina, valorizamos muito esta linha de pesquisa, que poderá integrar, mesmo sutilmente, a plêiade de conhecimentos que possa orientar estratégias para evitar, reconhecer a dimensão e eventualmente tratar, se necessário, a condição do feto que se encontra abaixo do décimo percentil do crescimento.

Oportunamente, interferir quando adequado na homeostase do produto da concepção, vislumbrando a formação de um ser saudável que contribua socialmente é a função clássica da obstetrícia.

7 CONCLUSÃO

A concentração sérica de Vitamina D não apresentou diferenças estatisticamente significantes entre as gestantes com fetos que apresentam restrição, de peso adequado e pequeno para idade gestacional.

8 REFERÊNCIAS

-
1. ACOG. Practice Bulletin nº 204: Fetal growth restriction. *Obstet Gynecol.* 2019 Feb;133(2):e97-e109.
 2. Froen JF, Gardosi JO, Thurmann A, et al. Restricted fetal growth in sudden intrauterine unexplained death. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83:801-7.
 3. Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, O'Donoghue K, et al. Optimizing the Definition of Intrauterine Growth Restriction. *Obstet Gynecol Surv [Internet].* 2013;68(8):549-51.
 4. Barker DJP, Gluckman PD, Godfrey KM. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet.* 1993;341:938-41.
 5. Balasuriya CND, Stunes AK, Mosti MP, Schei B, Indredavik MS, Hals IK, et al. Metabolic Outcomes in Adults Born Preterm With Very Low Birthweight or Small for Gestational Age at Term: A Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Dec 1;103(12):4437-46.
 6. Briana DD, Malamitsi-Puchner A. Intrauterine growth restriction: the controversial role of perinatal adipocytokines in the prediction of metabolic adult disease. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019 sept:1-6.
 7. Mandruzzato GP, Bogatti P, Fisher L, Gigli C. The clinical significance of absent or reverse end diastolic flow in the fetal aorta and umbilical artery. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1991;192-6.
 8. Garcia SG, Nardoza LMM, Garcia RL, Caetano ACR. Cardiotocografia anteparto, intraparto e computadorizada. *Obstetrícia (UNIFESP) Manole.* 2011;120:1507-26.
 9. Hadlock FP, Harrist RB, Carpenter RJ, Deter RL, Park SK. Sonographic of Fetal Weight. *Radiology.* 1984;150:535-40.
 10. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorgiou A, Baschat AA, Baker PN, et al. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48(3):333-9.
 11. Marcondes L, Nardoza M, Cristina A, Zamarian P, Júnior EA. New Definition of Fetal Growth Restriction: Consensus Regarding a Major Obstetric Complication Nova definição de restrição do crescimento fetal: Consensos para uma importante complicação obstétrica. 2017;315-6.
 12. Tong VT, Englund LJ, Rockhill KM, D'angelo DV. Risks of preterm delivery and small for gestational age infants: effects of nondaily and low-intensity daily smoking during pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2017 Mar;31(2):144-148. Epub 2017 Feb 9.
-

-
13. Hazart J, Le Guennec D, Accoceberry M, Lemery D, Mulliez A, Farigon N, et al. Maternal nutritional deficiencies and small-for-gestational-age neonates at birth of women who have undergone bariatric surgery. *J Pregnancy*. 2017;2017:4168541
 14. Hong-Bi S, Yin X, Xiaowu Y, Ying W, Yang X, Ting C, Na W. High prevalence of vitamin D deficiency in pregnant women and its relationship with adverse pregnancy outcomes in Guizhou, China. *J Int Med Res*. 2018 Nov;46(11):4500-5.
 15. Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-a review of recent evidence. *Autoimmun Rev*. 2013 Aug;12(10):976-89.
 16. Urrutia-Pereira M, Sole D. Deficiência de vitamina D na gravidez e o seu impacto sobre o feto, o recém-nascido e na infância. *Rev Paul Pediatr*. 2015;33(1):104-13.
 17. Serrano NC, Guío E, Quintero-Lesmes DC, Becerra-Bayona S, Luna-Gonzalez ML, Herrera VM, Prada CE. Vitamin d deficiency and pre-eclampsia in colombia: previtd study. *Pregnancy hypertens*. 2018 oct;14:240-4.
 18. Szymczak-Pajor I, Śliwińska A. Analysis of Association between Vitamin D Deficiency and Insulin Resistance. *Nutrients*. 2019 Apr 6;11(4). pii: E794.
 19. Hu L, Zhang Y, Wang X, You L, Xu P, Cui X, et al. Maternal Vitamin D Status and Risk of Gestational Diabetes: a Meta-Analysis. *Cell Physiol Biochem*. 2018;45(1):291-300.
 20. Taheri M, Baheiraei A, Foroushani AR, Nikmanesh B, Modarres M. Treatment of vitamin d deficiency is an effective method in the elimination of asymptomatic bacterial vaginosis: a placebo-controlled randomized clinical trial. *Indian J Med Res*. 2015 Jun;141(6):799-806.
 21. Kassai MS, Cafeo FR, Affonso-Kaufman FA, Suano-Souza FI, Sarni ROS. Vitamin D plasma concentrations in pregnant women and their preterm newborns. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2018 Oct 22;18(1):412.
 22. Lee CL, Ng BK, Wu LL, Cheah FC, Othman H, Ismail NAM. Vitamin d deficiency in pregnancy at term: risk factors and pregnancy outcomes. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2017 May 26;31(3).
 23. Bodnar LM, Catov JM, Zmuda JM, Cooper ME, Parrott MS, Roberts JM, et al. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with small-for-gestational age births in white women. *J Nutr*. 2010 May;140(5):999-1006.
-

-
24. Robinson CJ, Wagner CL, Hollis BW, Baatz JE, Johnson DD. Maternal vitamin D and fetal growth in early-onset severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Jun;204(6):556.e1-4.
 25. Gernand AD, Bodnar LM, Klebanoff MA, Parks WT, Simhan HN. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D and placental vascular pathology in a multicenter US cohort. *Am J Clin Nutr.* 2013 Aug;98(2):383-8.
 26. Gernand AD, Simhan HN, Caritis S, Bodnar LM. Maternal Vitamin D Status and Small-for-Gestational-Age Offspring in Women at High Risk for Preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2014;123(1):40-8.
 27. Khalessi N, Kalani M, Araghi M, Farahani Z. The Relationship between Maternal Vitamin D Deficiency and Low Birth Weight Neonates. *J Family Reprod Health.* 2015 Sep;9(3):113-7.
 28. Miliku K, Vinkhuyzen A, Blanken LM, McGrath JJ, Eyles DW, Burne TH, et al. Maternal vitamin D concentrations during pregnancy, fetal growth patterns, and risks of adverse birth outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2016 Jun;103(6):1514-22.
 29. Wookey AF, Chollangi T, Yong HE, Kalionis B, Brennecke SP, Murthi P, Georgiou HM. Placental Vitamin D-Binding Protein Expression in Human Idiopathic Fetal Growth Restriction. *J Pregnancy.* 2017;2017:5120267.
 30. Bärebring L, Bullardo M, Glantz A, Hulthén L, Ellis J, Jagner A, et al. Trajectory of vitamin D status during pregnancy in relation to neonatal birth size and fetal survival: a prospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth* (2018):18:51.
 31. Maugeri A, Barchitta M, Blanco I, Agodi A. Effects of vitamin d supplementation during pregnancy on birth size: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients.* 2019 Feb 20;11(2). Pii: e442.
 32. Hadlock FP, Harrist RB, Shah YP, et al. Estimating fetal age using multiple parameters: a prospective evaluation in a racially mixed population. *Am J Obstet Gynecol.* 1987;156:955-7.
 33. Arduini D, Rizzo G, Romanini C. Changes of pulsatility index from fetal vessels preceding the onset of late decelerations in growth-retarded fetuses. *Obstet Gynecol.* 1992;79(4):605-10.
 34. Gratacós E. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;32:128-32.
 35. Chamberlain PF, Manning FA, Morrison I, Harman CR, Lange IR. Ultrasound evaluation of amniotic fluid volume. I. The relationship of marginal and decreased amniotic fluid volumes to perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1984;150:245-54.
-

-
36. Costa FS, Cunha SP, Berezowski AT. Avaliação prospectiva do índice de líquido amniótico em gestações normais e complicadas. *Radiol Bras* 2005;38:337-41.
 37. Agresti A. (2002). *Categorical data analysis*. Wiley-Interscience. 2nd. edition.
 38. Magalhães MN, Lima ACP. (2005). *Noções de probabilidade e estatística*. EdUSP. 6ª ed.
 39. Gourvas V, Dalpa E, Konstantinidou A, Vrachnis N, Spandidos DA, Sifakis S. Angiogenic factors in placentas from pregnancies complicated by fetal growth restriction(review). *Mol Med Rep*. 2012 Jul;6(1):23-7.
 40. Martin MM, McCarthy DM, Schatschneider C, Trupiano MX, Jones SK, Kalluri A, Bhide PG. Effects of developmental nicotine exposure on frontal cortical gaba-to-non-gaba neuron ratio and novelty-seeking behavior. *Cereb Cortex*. 2019 Oct 10. pii: bhz207.
 41. Resnik R. Intrauterine growth restriction. *Obstet Gynecol*. 2002;99(3):490-6.
 42. Bamfo JE, Odibo AO. Diagnosis and management of fetal growth restriction. *J Pregnancy*. 2011;15 pages.640715.
 43. Harkness UF, Mari G. Diagnosis and management of intrauterine growth restriction. *Clin Perinatol*. 2004;31(4):743-64.
 44. Ornoy A. Prenatal origin of obesity and their complications: gestational diabetes, maternal overweight and the paradoxical effects of fetal growth restriction and macrosomia. *Reprod Toxicol*. 2011;32(2):205-12.
 45. Sawant LD, Venkat S. Comparative Analysis of Normal versus Fetal Growth Restriction in Pregnancy: The Significance of Maternal Body Mass Index, Nutritional Status, Anemia, and Ultrasonography Screening. *Int J Reprod Med*. 2013;671954. Published online 2013 Dec 29.
 46. Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O'Beirne M, Rabi DM. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 2013;346:1169-80.
 47. Sharma N, Nath C, Mohammad J. Vitamin D status in pregnant women visiting a tertiary care center of North Eastern India. *J Family Med Prim Care*. 2019 Feb;8(2):356-60.
 48. Tao RX, Meng DH, Li JJ, Tong SL, Hao JH, Huang K, et al. Current Recommended Vitamin D Prenatal Supplementation and Fetal Growth: Results From the China-Anhui Birth Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018 Jan;103(1):244-52.
-

-
49. Von Websky K, Hasan AA, Reichetzeder C, Tsuprykov O, Hoher B. Review Impact of vitamin d on pregnancy-related disorders and on offspring outcome. *J Steroid Biochem Mol Biology*. 2018 June; 180:51-64.
 50. Hogan MC, Foreman KJ, Naghavi M, Ahn SY, Wang M, Makela SM. Maternal mortality for 181 countries, 1980-2008: A systematic analysis of progress towards millennium development goal 5. *Lancet* 2010;375:1609-23.
 51. Filippi V, Ronsmans C, Campbell OM, Graham WJ, Mills A, Borghi J et al. Maternal health in poor countries: the broader context and a call for action. *Lancet*. 2006;368:1535-41.
 52. Sahu M, Bhatia V, Aggarwal A, Rawat V, Saxena P, Pandey A et al. Vitamin D deficiency in rural girls and pregnant women despite abundant sunshine in northern India. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009;70:680-4.
 53. Bodnar LM, Simhan HN, Ponder RW, Frank MP, Cooperstein E, Roberts JM. High prevalence of vitamin d insufficiency in black and white pregnant women residing in the northern united states and their neonates. *J Nutr*. 2007;137:447-52.
 54. Thandrayen K, Pettifor JM. Maternal vitamin D status: implications for the development of infant nutritional rickets. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010;39:303-20.
 55. Zhou J, Su L, Liu M, Liu Y, Cao X, Wang Z. Associations between 25-hydroxyvitamin d levels and pregnancy outcomes: A prospective observational study in southern china. *Eur J Clin Nutr*. Ago 2014;68(8):925-30.
 56. Qin LL, Lu FG, Yang SH, Xu HL, Luo BA. Review Does Maternal Vitamin D Deficiency Increase the Risk of Preterm Birth: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Nutrients*. 2016 May 20; 8(5):
 57. Hu Z, Tang L, Xu HL. Maternal Vitamin D deficiency and the risk of small for gestational age: A meta-analysis. *Iran J Public Health*. 2018 Dec;47(12):1785-95.
 58. Tous M, Villalobos M, Iglesias L, Fernández-Barrés S, Arijia V. Vitamin D status during pregnancy and offspring outcomes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Clin Nutr*. 2019 Jan 25.
 59. Olesya B, Margarita B, Irina K, Gulrukhsor T, Tatiana T, Igor K. Expression of vitamin d and vitamin d receptor in chorionic villous in missed abortion. *Gynecol Endocrinol*. 2019;35(sup1):49-55.
 60. Grant WB, Fakhoury HMA, Karras SN, Al Anouti F, Bhattoa HP. Variations in 25-Hydroxyvitamin D in Countries from the Middle East and Europe: The Roles of UVB Exposure and Diet. *Nutrients*. 2019 3 de setembro;11(9). pii: E2065.
-

Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1 – Título do projeto: **AVALIAÇÃO DA VITAMINA D NAS GESTANTES COM FETOS DE PESO ABAIXO DO PERCENTIL DE 10**

2 – Desenho do estudo e objetivo. Você está sendo convidada a participar desta pesquisa que tem como objetivo “avaliar os níveis individuais de Vitamina D nas gestantes com fetos pequenos para idade gestacional e em mulheres saudáveis na mesma idade gestacional”

3 – Descrição dos procedimentos que serão realizados: Punção periférica da veia do antebraço.

4 – Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados – coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço.

5 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 3 e 4: Risco mínimo com leve desconforto durante a coleta de sangue.

6 – Benefícios para o participante: Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício para as gestantes com RCF.

7 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar;

8 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a Dra Vivian Macedo Gomes Marçal que pode ser encontrado no telefone (13)99608-9609 e no endereço Rua Borges Lagoa, nº 418. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa – Rua Botucatu, 572 – 1º andar – cj 14, 5571-1062, FAX: 5539-7162 – E-mail: cepunifesp@unifesp.br

9 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

10 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com as de outros voluntários, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

11 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

12 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

13 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Declaração do participante

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo.

Eu discuti com a Dr^a Vivian Macedo Gomes Marçal sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Data: ____/____/____

Nome do participante da pesquisa

assinatura

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Data: ____/____/____

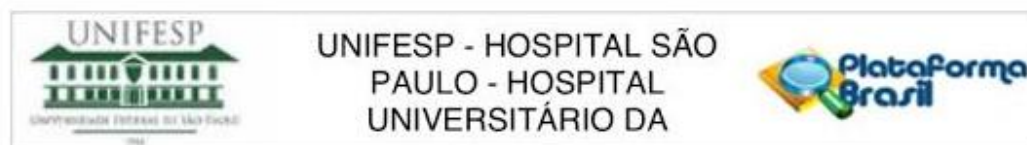
Nome do pesquisador principal

assinatura

Anexo 2– Protocolo de Pesquisa**FICHA CADASTRAL – VIT D NAS GESTANTES COM FETOS PIG**

Nome do Paciente:		Telefone:		Data:	
Idade:	Peso:	Altura:	IMC:	Número de Inscrição:	
Responsável pela informação:				<input type="checkbox"/> Médico	
PASSADO OBSTÉTRICO					
<ul style="list-style-type: none"> • DON: • DOPP: • DOPA: • DCC/G: 					
INFORMAÇÕES DA GESTAÇÃO ATUAL					
DUM: ___/___/___ IG PELA DUM: ___ SEM ___ DIAS 1ºUSG: ___/___/___ COM ___ SEM ___ DIAS <input type="checkbox"/> ERRO DE DATA <input type="checkbox"/> PRIMIPATERNIDADE <input type="checkbox"/> GESTAÇÃO ÚNICA <input type="checkbox"/> GEMELARIDADE <input type="checkbox"/> MALFORMAÇÃO FETAL					
HABITOS DE VIDA					
<input type="checkbox"/> TABAGISTA (1cigarro/dia) <input type="checkbox"/> REPOSIÇÃO DE VIT D <input type="checkbox"/> PEIXE E FRUTOS DO MAR (150g, 3x/semanas) <input type="checkbox"/> EXPOSIÇÃO AO SOL (20min/dia) <input type="checkbox"/> PROTETOR SOLAR					
CARACTERÍSTICAS DO USG ATUAL					
<ul style="list-style-type: none"> • IG: ___ SEM ___ DIAS • PLACENTA: _____ ILA: ___ PESO: _____g PERCENTIL: _____ • <u>DOPPLER (IR/IP)</u>: ACM: ___ / ___ AUMB: ___ / ___ AUD: ___ / ___ AUE: ___ / ___ • BIOMETRIA FETAL MÉDIA: ___ SEM ___ DIAS 					
ASSINATURA DO PACIENTE			ASSINATURA DO PESQUISADOR		
Nome:			Nome:		
Data:			Data:		

Anexo 3 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Avaliação do Omega 3 nas gestações com Restrição do Crescimento Fetal

Pesquisador: LUCIANO MARCONDES MACHADO NARDOZZA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 57477816.5.0000.5505

Instituição Proponente: Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/EPM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.004.104

Apresentação do Projeto:

EMENDA AO PROTOCOLO

Nº CEP: 0881/2016 (parecer final)

A restrição do crescimento fetal (RCF), que pode ser definida quando o peso fetal está abaixo do percentil 10, constitui intercorrência que acomete de 5 a 10% das gestações, sendo a segunda principal causa de mortalidade perinatal. Não existe, na atualidade, intervenção terapêutica efetiva capaz de reverter nem ao menos interromper o curso progressivo da insuficiência placentária. O acompanhamento consiste em otimizar a assistência e decidir o momento apropriado do parto, confrontando os riscos inerentes à prematuridade e aqueles decorrentes da acidemia com a permanência intra-uterina. Dentro desse contexto surge como opção terapêutica a utilização do Omega 3 (3), ácido graxo (AG)

capaz de promover o desenvolvimento e crescimento do conceito. Os AG 3 e 6 são precursores de eicosanóides - mediadores de origem lipídica que modulam a resposta inflamatória e imunológica. Os AG são capazes de influenciar a produção de citocinas e da resposta tecidual. De uma maneira geral, AG 3 reduzem a resposta inflamatória sistêmica e os AG 6 aumentam. Os eicosanóides oriundos do metabolismo do AG 3, como as prostaglandinas da série 3, leucotrienos da série 5, e tromboxanos A3, têm menor efeito inflamatório e maior no mecanismo de defesa do sistema

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

Bairro: VILA CLEMENTINO

CEP: 04.023-061

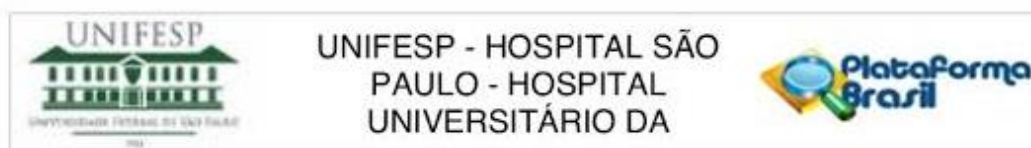
UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)5571-1062

Fax: (11)5539-7162

E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.004.104

imune (PGE2).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Para isto, realizaremos primeiramente a dosagem dos ácidos graxos

Omega 3 e Omega 6 em gestantes com e sem RCF e confrontaremos os resultados para determinar se há ou não déficit de Omega 3 nas gestações com RCF.

Objetivo Secundário: É ainda objetivo avaliar a interferência da administração do Omega 3 no crescimento dos fetos durante a gestação, atividade que será realizada em um outro estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

CONFORME DESCRITO NO PARECER INICIAL

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

EMENDA JUSTIFICATIVA

Acrescentando a avaliação da dosagem de vitamina D, no projeto de pesquisa de parecer número: 1.849.955 (CEP: 0881/2016 – parecer final), não causando nenhum malefício para a paciente, sendo que a mesma terá apenas um pequeno desconforto durante a coleta de sangue que será a mesma para realizar a dosagem do ômega 3.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

DOCUMENTOS ENCAMINHADOS DE FORMA ADEQUADA

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

emenda aprovada

Considerações Finais a critério do CEP:

PARECER ACATADO PELO COLEGIADO

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_887174_E1.pdf	29/03/2017 18:08:43		Aceito
Outros	Justificativa_Emenda.doc	29/03/2017 18:07:13	LUCIANO MARCONDES MACHADO NARDOZZA	Aceito

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14

Bairro: VILA CLEMENTINO

CEP: 04.023-061

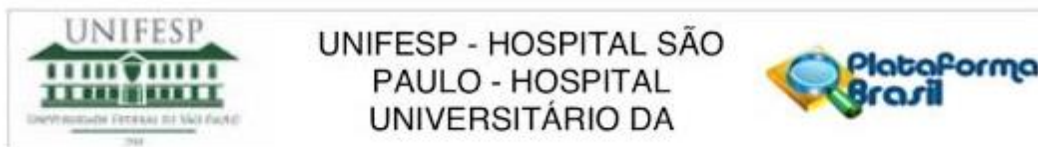
UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)5571-1062

Fax: (11)5539-7162

E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.004.104

Recurso Anexado pelo Pesquisador	carta_resposta.DOC	13/09/2016 14:26:03	LUCIANO MARCONDES MACHADO NARDOZZA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	13/09/2016 14:24:42	LUCIANO MARCONDES MACHADO NARDOZZA	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	28/04/2016 08:42:50	LUCIANO MARCONDES MACHADO NARDOZZA	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	25/04/2016 10:35:00	LUCIANO MARCONDES MACHADO NARDOZZA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PB.pdf	25/04/2016 10:34:26	LUCIANO MARCONDES MACHADO NARDOZZA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 06 de Abril de 2017

Assinado por:
Miguel Roberto Jorge
(Coordenador)

Endereço: Rua Botucatu, 572 1º Andar Conj. 14
Bairro: VILA CLEMENTINO CEP: 04.023-061
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)5571-1062 Fax: (11)5539-7162 E-mail: secretaria.cepunifesp@gmail.com

Anexo 4 – Comprovante do auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.



Identificação do Processo

Número do Processo	2016/10645-7 - Projeto de Pesquisa - Regular
Situação	Em Execução
Grupo de Financiamento	Auxílio à Pesquisa
Linha de Fomento	Programas Regulares / Auxílios a Pesquisa / Projeto de Pesquisa / Projeto de Pesquisa - Regular - Fluxo Contínuo
Beneficiário	Luciano Marcondes Machado Nardozza
Responsável	Luciano Marcondes Machado Nardozza
Data Início	01/10/2016
Duração	24 meses

Instituição de Pesquisa/Empresa	Escola Paulista de Medicina/EPM/UNIFESP
--	---

Departamento	Obstetrícia
---------------------	-------------

Data de Abertura	31/05/2016
-------------------------	------------

Anexo 5 – Trabalho apresentado em forma de pôster no Congresso Médico Acadêmico de Santos – 6 a 10 de maio de 2019 - Centro Universitário Lusíada – **Prêmio de 3º lugar.**

XXXVII PRÊMIO ARÃO SCHWARTZ

Congresso Médico Acadêmico de Santos

Avaliação da vitamina D nas gestações com restrição de crescimento fetal.

LIMA JS;¹ MARÇAL VMG;² CORAZZA IC;² GROHMANN RM;² SOUSA FLP;¹ NARDOZZA LMM;²

¹UNILUS, SANTOS - SP - BRASIL ²UNIFESP, SÃO PAULO - SP - BRASIL

INTRODUÇÃO

A restrição do crescimento fetal (RCF), definida quando o peso fetal é inferior ao percentil (P) 10, acomete 05 a 10% das gestações¹. Concentrações séricas de vitamina D são relacionadas com RCF ao prejudicar crescimento e desenvolvimento fetais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo observacional transversal realizado no Hospital Guilherme Álvaro e Hospital São Paulo (janeiro/ 2018 a janeiro/2019). Trinta e oito gestantes saudáveis com idade gestacional de 26-36 semanas com feto único e vivo, tiveram uma amostra sanguínea analisada para identificar a concentração sérica de vitamina D e realizada ultrassonografia para estimar o peso fetal segundo Hadlock et al.² além de avaliar o percentil do crescimento. O nível sérico de vitamina D foi classificado como deficiência: < 20,0 ng/ml; insuficiência: 20,0 – 30,0 ng/ml e suficiência: 30,0 – 100,0 ng/ml e relacionado ao peso fetal nos grupos :percentis < 03, entre 03 e 10 e maior que 10.

DISCUSSÃO

Em pesquisa de Khalessi et al. (2015) , estudando o nível sérico de vitamina D em 102 gestantes, identificou 48% com deficiência , 27,5% com insuficiência e 24,5% que estavam dentro da faixa normal .O nível sérico médio nas mulheres com recém - nascido de baixo peso foi significativamente menor do que naquelas com neonatos com peso normal (p = 0,001).³

Estes achados são divergentes dos nossos podendo se inferir que a RCF por ter causa multifatorial pode ocorrer por outras etiologias não relacionadas a este nutriente , e que também como a insuficiência foi comum em todos os nossos grupos poderia ser que esta população possua um nível basal insuficiente, com condições sócio-econômicas desfavoráveis e que o evoluir da gravidez não demonstraria uma diferença expressiva entre os grupos.

OBJETIVO

Relacionar a concentração sérica de vitamina D em gestantes diagnosticadas com restrição de crescimento fetal com percentis < 3, entre 03 e 10 e maior que 10.

RESULTADO

Figura 1: Distribuição da variável Vitamina D, em cada grupo, na amostra estudada.

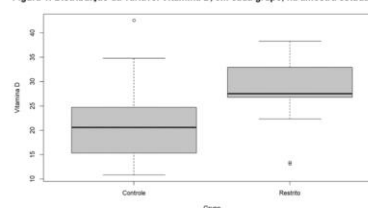
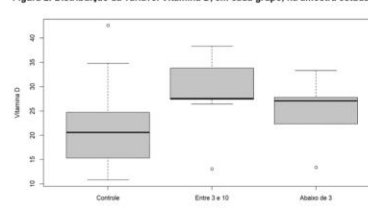


Figura 2: Distribuição da variável Vitamina D, em cada grupo, na amostra estudada.



CONCLUSÃO

O nível sérico de vitamina D em todos os grupos foi considerado insuficiente, sendo maior quando o feto era restrito, principalmente quando o percentil do peso fetal estimado era menor do que 03, seguido quando o percentil estava entre 03 e 10 , comparando com os fetos com peso normal. A ampliação da amostra poderá determinar conclusões definitivas.



Anexo 6 – Carta de submissão para publicação do artigo

Dear Associate Professor Edward Araujo Júnior:

Thank you for submitting the manuscript, "ASSESSMENT OF VITAMIN D LEVELS IN PREGNANT WOMEN WITH GROWTH RESTRICTED AND SMALL FOR GESTATIONAL AGE FETUSES" to Ginekologia Polska. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL:

https://journals.viamedica.pl/ginekologia_polska/author/submission/66215

Username: araujojred@terra.com.br

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Editor-in-Chief

Rafał Stojko

Anexo 7 – Artigo para publicação**ASSESSMENT OF VITAMIN D LEVELS IN PREGNANT WOMEN WITH
GROWTH RESTRICTED AND SMALL FOR GESTATIONAL AGE FETUSES****Running title:** Vitamin D in FGR and SGA**Type of article:** Original article

Authors: Vivian Macedo Gomes Marçal^{*}, Francisco Lázaro Pereira Souza[†], Silvia Daher, Raquel Margiotte Grohmann^{*}, Isabela César Corazza^{*}, Jaqueline Santili Lima[†], Alberto Borges Peixoto^{§/€}, Edward Araujo Júnior^{*}, Luciano Marcondes Machado Nardozza^{*}

Institutions:

^{*} Department of Obstetrics, Paulista School of Medicine – Federal University of São Paulo (EPM-UNIFESP), São Paulo-SP, Brazil

[†] Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Science College of Santos, Santos-SP, Brazil

[§] Department of Gynecology and Obstetrics, Federal University of Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG, Brazil

[€] Gynecology and Obstetrics Service, Mário Palmério University Hospital, University of Uberaba (UNIUBE), Uberaba-MG, Brazil

Correspondence:

Prof. Edward Araujo Júnior, PhD

Rua Belchior de Azevedo, 156 apto. 111 Torre Vitoria

São Paulo-SP, Brazil

CEP 05089-030

Phone/Fax: +55-11-37965944;

E-mail: araujojred@terra.com.br

ORCID: 0000-0002-6145-2532

ABSTRACT

Objective: To assess maternal serum levels of vitamin D in fetuses appropriate for gestational age (AGA), small for gestational age (SGA), and with fetal growth restriction (FGR).

Materials and Methods: This cross-sectional prospective case-control study included 87 pregnant women between 26 and 36 weeks of gestation: 38 in the AGA group, 24 in the SGA group, and 25 in the FGR group. Maternal serum vitamin D levels were assessed using the chemiluminescence method. The Fisher's exact test was used to compare between-group results.

Results: The mean \pm standard deviation (SD) of maternal age (years) and body mass index (kg/m^2) in the AGA, SGA, and FGR groups were 25.26 ± 8.40 / 26.57 ± 4.37 , 25.04 ± 8.44 / 26.09 ± 3.94 , and 25.48 ± 7.52 / 26.24 ± 4.66 , respectively ($p > 0.05$). The maternal serum vitamin D levels (mean \pm SD) of the AGA, SGA, and FGR groups were 22.47 ± 8.35 ng/mL, 24.80 ± 10.76 ng/mL, and 23.61 ± 9.98 ng/mL, respectively, but without significant differences between the groups ($p = 0.672$).

Conclusion: Maternal serum vitamin D levels did not present significant differences between pregnant women with AGA, SGA, or FGR fetuses between 26 and 36 weeks of gestation.

Keywords: Pregnancy, maternal serum levels, vitamin D, small for gestational age, fetal growth restriction

INTRODUCTION

Fetal growth restriction (FGR) affects about 5-10% of pregnancies and is the second leading cause of perinatal mortality, responsible for approximately 30% of stillbirths, as well as a cause of higher frequency of premature births and intrapartum asphyxia[1]. Fetuses born small for gestational age (SGA) are those with prediction of weight below the 10th percentile gestational age, without impairing their genetic potential for growth [2].

Currently, the classification of FGR follows the Delphi consensus, in which the fetuses are classified with early (< 32 weeks) and late fetal growth restriction (\geq 32 weeks), excluding congenital anomalies[3]. Hypertrophy of fetal cells begins approximately at 32 weeks, and the importance given to the abdominal circumference (AC) is justified by the reduction of the liver, with reduction of glycogen storage associated with a decrease in abdominal fatty tissue [4].

Vitamin D is a steroid involved in intestinal absorption and regulation of calcium homeostasis and is essential for the formation and maintenance of healthy and strong bones. Vitamin D deficiency may be due to inadequate exposure to the sun, inefficient food intake, decrease in absorption, and abnormal metabolism [5]. Recent studies have related vitamin D deficiency during pregnancy to pre-eclampsia [6], gestational diabetes mellitus [7], and prematurity [8], yet the relationship with FGR or SGA fetuses remains uncertain.

Bodnar et al. [9] sought to elucidate the association between maternal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] and risk of SGA fetuses. They observed a relationship between maternal 25(OH)D serum level and risk of SGA in white women but not in black women, suggesting that vitamin D has a complex relationship with fetal growth that may vary according to race. Gernand et al. [10] evaluated the association between maternal 25(OH)D levels and increased risk of placental insufficiency and observed a relationship between 25(OH)D and vascular damage, with 25(OH)D \geq 80 nmol/L associated with 49% lower risk of FGR in male newborns.

OBJETIVES

Therefore, the objective of this study is to assess maternal vitamin D serum levels with SGA and FGR fetuses, comparing them with fetuses appropriate for gestational age (AGA) between 26 and 36 weeks of gestation.

MATERIALS AND METHODS

A prospective cross-sectional case-control study was conducted between November 2016 and July 2019. The study was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of São Paulo (UNIFESP) protocol No. 2.004.104, and all participants signed an informed consent form. The study was conducted at the São Paulo (UNIFESP) and Guilherme Álvaro (Faculty of Medical Sciences, Santos) hospitals.

The inclusion criterion was unique pregnancies between 26 and 36 weeks of gestation, and the exclusion criteria were women in labor, fetuses with congenital anomalies detected on ultrasound, and chronic diseases such as hypertension, diabetes mellitus, autoimmune diseases, and heart diseases. Gestational age was determined by the date of the last menstrual period (LMP) and confirmed by ultrasonography performed up to 13 weeks.

The pregnant women were divided into three groups: 1) AGA (control) - estimated fetal weight (EFW) between 10th and 90th percentiles, according to the table proposed by Hadlock et al. [11]; 2) SGA - EFW <10th percentile [11] and which do not meet the Delphi criteria [3] for FGR; and 3) FGR - EFW <3rd percentile or EFW between 3rd and 10th percentiles [11] and pulsatility index (PI) of the umbilical artery >95th percentile [12] and/or cerebroplacental ratio (CPR) <1 [13].

The ultrasound examinations were performed using a diagnostic WS80 Ultrasound System (Samsung Corp., Seoul, South Korea) by experienced examiners. Biometric measurements

and estimated fetal weight were determined, according to the equation by Hadlock et al. [14]. Doppler parameters of the middle cerebral (MCA) and umbilical (UA) arteries were evaluated according to the curve of Arduini et al. [12]. These were considered altered when MCA PI <5th percentile and/or UA PI >95th percentile for gestational age. The uterine artery Doppler parameters were evaluated according to the curve reported by Gratacós et al. [15] and were considered abnormal when mean PI >95th percentile for gestational age. The volume of the amniotic fluid was evaluated by the four quadrants technique, according to the Amniotic Fluid Index (AFI) [16], with AFI <5 cm being considered oligohydramnios.

Maternal blood samples were collected during the pre-natal consultations. Peripheral venous punctures were performed by two trained investigators, and the material was homogenized by inversion 5 to 8 times, accommodated in a sealed tube, and kept in a vertical position for 30 minutes. After complete blood coagulation, centrifugation was performed at 3000 rpm for 15 minutes, and the samples were sent for laboratory analysis.

The ADVIA Centaur Vitamin D Total test (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany) was used in the *in vitro* quantitative determination of total vitamin D 25(OH) in human serum and plasma. This is an 18-minute single pass competitive immunoassay using mouse monoclonal acridine ester (AE) labeled anti-vitamin D 25(OH) antibody and a fluorescein-labeled vitamin D analog. The ADVIA Centaur and ADVIA Centaur XP systems automatically perform the following steps: 1) dispenses 20 µL of sample into a cuvette and incubates for 15 seconds; 2) dispenses 200 µL Auxiliary Reagent and incubates for 4.5 minutes at 37 °C; 3) dispenses 50 µL of Lite Reagent and incubates for 5.5 minutes at 37 °C; 4) dispenses 100 µL of Solid Phase and 50 µL of Auxiliary Container Reagent and incubates for 2.75 minutes at 37 °C; 5) separates the solid phase from the mixture and aspirates unbound reagent; 6) washes the cuvette with Wash Solution 1; and 7) dispenses

300 µl of acid reagent and base reagent to initiate the chemiluminescent reaction.

The ADVIA Centaur systems communicate the results by e-mail, which according to an analysis of the literature, recommends the following classification for 25 (OH) D levels: 1) deficiency < 20 ng/mL (50 nmol/L); 2) insufficiency between 20–30 ng/mL (50–75 nmol/L); 3) sufficiency between 30–100 ng/mL (75–250 nmol/L); and 4) toxicity > 100 ng/mL (250 nmol/L).

The data were transferred to an Excel 2010 spreadsheet (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) and analyzed by SPSS version 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The variables analyzed in the study were maternal age, weight, height, body mass index (BMI), gestational age, fish consumption (150 grams at least 3 times per week), exposure to sunlight (at least 20 min per day), solar protection, vitamin D replacement therapy, and smoking (at least on cigarette per day). From the point of view of inferential statistics, to compare the groups (AGA, SGA, and FGR) with regard to the numerical variables of the study, we applied the analysis of variance model with a fixed factor and Tukey's multiple comparisons method. For categorical variables, Fisher's Exact Test was used. In all analyses, a significance level of $p < 0.05$ was set.

RESULTS

Initially, blood samples from 100 pregnant women were collected; however, 13 samples were excluded due to failure of the material collected. Therefore, the final samples included 38 from the AGA group, 24 from the SGA group, and 25 in the FGR group. **Table 1** presents the descriptive analysis of maternal clinic characteristics of the three groups, with statistical differences for height ($p=0.017$) and gestational age ($p=0.038$).

With regard to categorical variables, the consumption of fish was low in all three groups.

In relation to sunlight exposure, a more balanced result was observed, with 59.8% of pregnant women not sunbathing regularly. In relation to vitamin D and smoking, 94.3% and 86.2%, respectively, did not supplement this vitamin and did not smoke. No pregnant woman reported using sunscreen. **Table 2** shows the comparison between the groups, with no statistical differences between them in any of the categorical variables.

The mean (\pm SD) levels of maternal serum vitamin D for the AGA, SGA, and FGR groups (22.47 ± 8.35 ng/mL, 24.80 ± 10.76 ng/mL, and 23.61 ± 9.98 ng/mL, respectively) showed no significant differences between the groups ($p=0.672$) (**Table 3**). The results were compatible with vitamin D insufficiency (20-30 ng/mL) in the three groups.

DISCUSSION

The inability of a fetus to attain the weight corresponding to its genetic potential increases morbidity and perinatal mortality; thus, FGR and obstetrical pathology must be diagnosed and managed early and adequately [17]. FGR increases the risk of long-term sequelae, such as coronary heart disease, diabetes mellitus type 2, arterial hypertension, and metabolic syndrome [18-20]. Therefore, the knowledge of extrinsic predisposing factors could help in the early diagnosis of this pathology. Accordingly, we evaluated the effect of maternal parameters such as BMI on FGR, as a study found that pregnant women with FGR fetuses have low BMI compared to pregnant women with AGA fetuses [21].

Vitamin D insufficiency is associated with obstetric pathologies such as pre-eclampsia and diabetes mellitus [6,7]. During pregnancy, supplementation of this vitamin can be a viable strategy to prevent low birth weight and small for gestational age [22], and for this reason, the study aimed at assessing the correlation of vitamin D with fetal growth.

Vitamin D deficiency in pregnant women is a major concern due to the risk of adverse

obstetric pathologies and perinatal outcomes [23,24]. The level of 25(OH)D, which is the main storage form of vitamin D in humans, can therefore be measured in maternal blood to determine overall vitamin D status.

In this study, low levels of vitamin D were observed in pregnant women between 26 and 36 weeks of gestation, living in a tropical country like Brazil, with abundant sunshine. In the south of China, which also has a tropical climate and where women were believed to have sufficient exposure to ultraviolet B radiation and regular vitamin supplementation in pre-natal care, a high prevalence of low levels of vitamin D between 16 and 20 weeks of gestation was also observed [25]. No significant differences in adverse perinatal outcomes were observed between pregnant women with different vitamin D levels, except for a higher prevalence of gestational diabetes mellitus and preterm delivery in women with high serum vitamin D levels [25].

The present study demonstrated a high prevalence (75.9%) of low serum vitamin D levels (deficient and insufficient levels) in pregnant women evaluated, regardless of the group assessed. A systematic review and meta-analysis, which included 54 eligible studies, reported that vitamin D deficiency (<30 ng/mL) was associated with SGA [26], unlike our study, which did not identify this association. This systematic review also identified the occurrence of preterm birth and deficits in mental development and language when vitamin D insufficiency was present [26]. Our study was cross-sectional and therefore did not evaluate the gestational outcomes.

CONCLUSIONS

In summary, maternal serum concentration of vitamin D showed no significant differences between pregnant women with AGA, SGA, or FGR between 26 and 36 weeks.

REFERENCES

1. Frøen JF, Gardosi JO, Thurmann A, Francis A, Stray-Pedersen B. Restricted fetal growth in sudden intrauterine unexplained death. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004; 83(9):801-7.
 2. Barker ED, McAuliffe FM, Alderdice F, Unterscheider J, Daly S, Geary MP, et al. The role of growth trajectories in classifying fetal growth restriction. *Obstet Gynecol.* 2013; 122(2 Pt 1):248-54.
 3. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorghiou A, Baschat AA, Baker PN, et al. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016; 48(3):333-9.
 4. Nardozza LMM, Zamarian ACP, Araujo Júnior E. New Definition of Fetal Growth Restriction: Consensus Regarding a Major Obstetric Complication. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2017; 39(7):315-6.
 5. Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-a review of recent evidence. *Autoimmun Rev.* 2013; 12(10):976-89.
 6. Serrano NC, Guío E, Quintero-Lesmes DC, Becerra-Bayona S, Luna-Gonzalez ML, Herrera VM, et al. Vitamin D deficiency and pre-eclampsia in Colombia: PREVitD study. *Pregnancy Hypertens.* 2018; 14:240-4.
 7. Hu L, Zhang Y, Wang X, You L, Xu P, Cui X, et al. Maternal Vitamin D Status and Risk of Gestational Diabetes: a Meta-Analysis. *Cell Physiol Biochem.* 2018; 45(1):291-300.
 8. Kassai MS, Cafeo FR, Affonso-Kaufman FA, Suano-Souza FI, Sarni ROS. Vitamin D plasma concentrations in pregnant women and their preterm newborns. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2018; 18(1):412.
-

9. Bodnar LM, Catov JM, Zmuda JM, Cooper ME, Parrott MS, Roberts JM, et al. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with small-for-gestational age births in white women. *J Nutr.* 2010; 140(5):999-1006.
 10. Gernand AD, Bodnar LM, Klebanoff MA, Parks WT, Simhan HN. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D and placental vascular pathology in a multicenter US cohort. *Am J Clin Nutr.* 2013; 98(2):383-8.
 11. Hadlock FP, Harrist RB, Martinez-Poyer J. In utero analysis of fetal growth: a sonographic weight standard. *Radiology.* 1991; 181(1):129-33.
 12. Arduini D, Rizzo G. Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J Perinat Med.* 1990; 18(3):165-72.
 13. Arias F. Accuracy of the middle-cerebral-to-umbilical-artery resistance index ratio in the prediction of neonatal outcome in patients at high risk for fetal and neonatal complications. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171(6):1541-5.
 14. Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL, Park SK. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements--a prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 1985; 151(3):333-7.
 15. Gómez O, Figueras F, Fernández S, Bennasar M, Martínez JM, Puerto B, et al. Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008; 32(2):128-32.
 16. Phelan JP, Smith CV, Broussard P, Small M. Amniotic fluid volume assessment with the four-quadrant technique at 36-42 weeks' gestation. *J Reprod Med.* 1987; 32(7):540-2.
 17. Gourvas V, Dalpa E, Konstantinidou A, Vrachnis N, Spandidos DA, Sifakis S. Angiogenic factors in placentas from pregnancies complicated by fetal growth restriction (review). *Mol Med Rep.* 2012; 6(1):23-7.
-

18. Bamfo JE, Odibo AO. Diagnosis and management of fetal growth restriction. *J Pregnancy*. 2011; 2011:640715.
 19. Harkness UF, Mari G. Diagnosis and management of intrauterine growth restriction. *Clin Perinatol*. 2004; 31(4):743-64.
 20. Ornoy A. Prenatal origin of obesity and their complications: Gestational diabetes, maternal overweight and the paradoxical effects of fetal growth restriction and macrosomia. *Reprod Toxicol*. 2011; 32(2):205-12.
 21. Sawant LD, Venkat S. Comparative Analysis of Normal versus Fetal Growth Restriction in Pregnancy: The Significance of Maternal Body Mass Index, Nutritional Status, Anemia, and Ultrasonography Screening. *Int J Reprod Med*. 2013; 2013:671954.
 22. Tao RX, Meng DH, Li JJ, Tong SL, Hao JH, Huang K, et al. Current Recommended Vitamin D Prenatal Supplementation and Fetal Growth: Results From the China-Anhui Birth Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018; 103(1):244-252.
 23. Sahu M, Bhatia V, Aggarwal A, Rawat V, Saxena P, Pandey A, et al. Vitamin D deficiency in rural girls and pregnant women despite abundant sunshine in northern India. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009; 70(5):680-4.
 24. Thandrayen K, Pettifor JM. Maternal vitamin D status: implications for the development of infantile nutritional rickets. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010; 39(2):303-20.
 25. Zhou J, Su L, Liu M3 Liu Y, Cao X, Wang Z, et al. Associations between 25-hydroxyvitamin D levels and pregnancy outcomes: a prospective observational study in southern China. *Eur J Clin Nutr*. 2014; 68(8):925-30.
 26. Tous M, Villalobos M, Iglesias L, Fernández-Barrés S, Arijia V. Vitamin D status during pregnancy and offspring outcomes: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Clin Nutr*. 2019 Jan 25. doi: 10.1038/s41430-018-0373-x. [Epub ahead of print]
-

Table 1. Comparison of numerical maternal variables in all three groups evaluated.

Group		Weight (kg)	Height (cm)	BMI (kg/m ²)	Gestational Age (weeks)	Maternal age (years)
AGA	Mean	69.41	1.61	26.57	31.08	25.26
	SD	14.59	0.07	4.37	2.87	8.4
	Minimum	49.3	1.49	19.83	25.86	15
	Maximum	105.8	1.76	37.11	35.86	42
FGR	Mean	65.24	1.59	26.24	32.17	25.48
	SD	13.1	0.07	4.66	3.16	7.52
	Minimum	39	1.47	16.44	26.29	15
	Maximum	85.2	1.72	34.63	36	42
SGA	Mean	65.28	1.58	26.09	33.01	25.04
	SD	10.99	0.07	3.94	2.59	8.44
	Minimum	51	1.5	20.7	27.71	15
	Maximum	84.6	1.8	35.21	36.71	41
p*		0.695	0.017	0.922	0.038	0.983

*Tukey's multiple comparisons AGA: appropriate for gestational age; FGR: fetal growth restriction; SGA: small for gestational age; SD: standard deviation; BMI: body mass index

Table 2. Comparison of maternal categorical variables in the three groups analyzed.

Group									P*
Fish consumption		AGA		FGR		SGA		Total	0.233
No	31	81.60%	20	80.00%	23	95.80%	74	85.10%	
Yes	7	18.40%	5	20.00%	1	4.20%	13	14.90%	
Total	38	100.00%	25	100.00%	24	100.00%	87	100.00%	
Exposure to sunlight		AGA		FGR		SGA		Total	0.925
No	23	60.50%	14	56.00%	15	62.50%	52	59.80%	
Yes	15	39.50%	11	44.00%	9	37.50%	35	40.20%	
Total	38	100.00%	25	100.00%	24	100.00%	87	100.00%	
Vitamin D supplement		AGA		FGR		SGA		Total	0.999
No	35	92.10%	24	96.00%	23	95.80%	82	94.30%	
Yes	3	7.90%	1	4.00%	1	4.20%	5	5.70%	
Total	38	100.00%	25	100.00%	24	100.00%	87	100.00%	
Smoking		AGA		FGR		SGA		Total	0.325
No	30	-78.90%	23	92.00%	22	91.70%	75	86.20%	
Yes	8	-21.10%	2	8.00%	2	8.30%	12	13.80%	
Total	38	100.00%	25	100.00%	24	100.00%	87	100.00%	

*Fisher Exact Test

AGA: appropriate for gestational age; FGR: fetal growth restriction; SGA: small for gestational age.

Table 3. Maternal serum levels of vitamin D in the three groups analyzed.

Group		Vitamin D	p*
AGA	Mean	22.47	0.672
	Standard Deviation	8.35	
	Minimum	10.8	
	Maximum	42.6	
FGR	Mean	24.8	
	Standard Deviation	10.76	
	Minimum	10.4	
	Maximum	50	
SGA	Mean	23.61	
	Standard Deviation	9.98	
	Minimum	8.3	
	Maximum	39.5	

*Tukey's multiple comparisons

AGA: appropriate for gestational age; FGR: fetal growth restriction; SGA: small for gestational age.